



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ESTUDIO CINÉTICO DE LIBERACIÓN DE QUERCETINA A
PARTIR DE MICROCÁPSULAS POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN
POR DIÁLISIS”**

Trabajo de titulación

Tipo: Proyecto experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: PABLO GABRIEL PAZMIÑO PEÑAFIEL

TUTOR: BQF. DIEGO VINUEZA T., M.Sc.

Riobamba-Ecuador

2018

©2018, Pablo Gabriel Pazmiño Peñafiel

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que el trabajo de investigación: “ESTUDIO CINÉTICO DE LIBERACIÓN DE QUERCETINA A PARTIR DE MICROCÁPSULAS POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN POR DIÁLISIS”, de responsabilidad del señor, Pablo Gabriel Pazmiño Peñafiel, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

BqF. Diego Vinueza M.Sc.

DIRECTOR DEL TRABAJO

DE TITULACIÓN

Dra. Adriana Rincón

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo, Pablo Gabriel Pazmiño Peñafiel declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Pablo Gabriel Pazmiño Peñafiel

060394054-5

DEDICATORIA

A mi familia que han sido apoyo e inspiración día a día en el proceso de formación de mi vida.

Pablo

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios, por todas las bendiciones y salud para continuar cada paso y logro que he obtenido en el transcurso de mi vida.

A mis padres quienes tuvieron el amor y la paciencia de criarme con valores, enseñarme la responsabilidad, el trabajo duro y la dedicación que son pilares fundamentales para lograr este anhelado escalón en mi vida.

A mis hermanos, tíos, primos, abuelitos, quienes fueron un apoyo moral y una mano en los días más difíciles en los cuales las demás personas niegan la mano.

A mi hijo, por ser la principal motivación para alcanzar este logro y por quien toda mi vida luchare con todas las fuerzas y todo el espíritu para ser su ejemplo y modelo a seguir.

A mi novia quien siempre con pocas palabras me apoyo en cada etapa de formación y los seguirá siendo en cada etapa de la vida.

Agradecerle de corazón al BqF. Diego Vinuesa, quien ha sido una guía y apoyo profesional para culminar y realizar este sueño posible.

A todos los maestros, que con su paciencia sembraron todos los conocimientos que en un futuro no muy cercano serán puestos en práctica.

A la ESPOCH, quien fue el alma mater que abrió las puertas para obtener este sueño de ser Bioquímico Farmacéutico.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

CS: Quitosan.

TPP: Tripolifosfato de sodio.

nm: nanómetro.

Q: Quercetina.

FFLM: Forma Farmacéutica de Liberación Modificada.

pH: potencial de Hidrogeno.

USP: Farmacopea de los Estados Unidos.

mg: miligramo

ml: mililitro

N: normalidad

L: Litro

c.s.p: cantidad suficiente para.

rpm: revoluciones por minuto.

°C: grados Celsius.

M: Matriz

TABLA DE CONTENIDOS

CAPITULO I

1. INTRODUCCION.....	¡Error! Marcador no definido.
1.1 Planteamiento del problema.	¡Error! Marcador no definido.
1.2 Marco Teórico	¡Error! Marcador no definido.
1.2.1 Flavonoides.	¡Error! Marcador no definido.
1.2.2 Quercetina.	¡Error! Marcador no definido.
1.2.3 Formas farmacéuticas de liberación modificada para uso oral. ..	¡Error! Marcador no definido.
1.2.3.1 Clasificación.	¡Error! Marcador no definido.
1.2.4 Microencapsulación	¡Error! Marcador no definido.
1.2.5 Gelificación Iónica.	¡Error! Marcador no definido.
1.2.6 Liberación de principios activos.	¡Error! Marcador no definido.

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.....	¡Error! Marcador no definido.
2.1 Lugar de la Investigación.	¡Error! Marcador no definido.
2.2 Equipos y Reactivos.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2.1 Equipos.	¡Error! Marcador no definido.
2.2.2 Materiales.	¡Error! Marcador no definido.
2.2.3 Reactivos.	¡Error! Marcador no definido.
2.3 Técnicas y Métodos.	¡Error! Marcador no definido.
2.3.1 Elaboración de microcápsulas.	¡Error! Marcador no definido.
2.3.2 Eficiencia real de encapsulación.	¡Error! Marcador no definido.
2.3.3 Liberación de Quercetina.	¡Error! Marcador no definido.

CAPITULO III

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	¡Error! Marcador no definido.
3.1 Hipótesis general.	¡Error! Marcador no definido.

3.2	<i>Objetivos de la investigación.</i>	¡Error! Marcador no definido.
3.2.1	<i>Objetivo General.</i>	¡Error! Marcador no definido.
3.2.2	<i>Objetivos Específicos.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	
	¡Error! Marcador no definido.	
4.1	<i>Formación de las microcápsulas</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.2	<i>Porcentaje de encapsulación real.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.3	<i>Liberación de Quercetina.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.3.1	<i>Liberación de Q en medio ácido.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.3.2	<i>Liberación de Q en medio neutro.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.3.3	<i>Liberación de Q en medio alcalino.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.3.4	<i>Porcentaje de liberación de Quercetina.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.4	<i>Ajuste al modelo cinético de liberación.</i>	¡Error! Marcador no definido.
4.4.1	<i>Ajuste de modelos y ecuaciones empíricas.</i>	¡Error! Marcador no definido.
	CONCLUSIONES.	¡Error! Marcador no definido.
	RECOMENDACIONES.	¡Error! Marcador no definido.
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Grupos de flavonoides	6
Tabla 2-1. Criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de un flavonoide.....	8
Tabla 1-3: Modelos empíricos de ajuste cinético.....	42
Tabla 6-3: Modelo de ecuaciones deducidas con fundamentos teóricos	42
Tabla 7-3: Valores de los modelos ajustados de la cinética de liberación	43
Tabla 1-4: Lotes de microcápsulas obtenidos.	31
Tabla 2-4: Porcentaje de encapsulación real.....	32
Tabla 3-4: Cantidad en ppm de Quercetina liberada en el proceso de disolución	33
Tabla 4-4: Porcentaje de Quercetina liberada en el proceso de disolución.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1-1. Estructura básica de un flavonoide.....	6
Figura 2-1. Estructura química de la quercetina	9
Figura 3-1. Tipos de microcápsulas	13
Figura 4-1: Métodos de obtención de microcápsulas	15
Figura 5-1: Tipos de microcápsulas según el tamaño de partícula.	15
Figura 6-1. Estructura del quitosano	17
Figura 7-1: Mecanismo para estudio de liberación.....	19
Figura 8-1: Parámetros para el ensayo de disolución de FFLM.	19
Figura 9-1: Interpretación de valores de la constante “n” en el modelo de Korsmeyer-Peppas.	23
Gráfico 1-4: Porcentaje de encapsulación real.....	32
Gráfico 2-4: ppm de Q liberadas en rango de pH ácido.....	35
Gráfico 3-4: ppm de Q liberadas en rango de pH neutro	36
Gráfico 4-4: ppm de Q liberadas en rango de pH alcalino.....	37
Figura 1-4: Análisis de ANOVA de un factor para relacionar liberación de Q con pH	40
Figura 2-4: Grafico de relación de pH con liberación de Q.....	41

INDICE DE ANEXOS

Anexo A: Obtención de las microcápsulas.

Anexo B: Filtración de las microcápsulas.

Anexo C: Filtrado de microcápsulas.

Anexo D: Acondicionamiento de las microcápsulas para liofilización.

Anexo E: Liofilización de microcápsulas.

Anexo F: Preparación de soluciones buffer (pH 1,2).

Anexo G: Preparación de soluciones buffer (pH 7,5).

Anexo H: Disolución de microcápsulas en diferentes escalas de Ph.

Anexo I: Modelo de la estadística utilizada para hallar el ajuste del modelo cinético (regresión no lineal).

Anexo J: Modelo de la estadística utilizada para hallar el ajuste del modelo cinético (suma de cuadrados).

Anexo K: Modelo estadístico de regresión no lineal para cada ajuste matemático.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar a qué modelo cinético se ajustan las microcápsulas de quercetina obtenidas por gelificación iónica, y cuantificar dicha liberación de quercetina mediante espectrofotometría, además de verificar si existe diferencia en la liberación de quercetina por la modificación del pH del medio de disolución de las microcápsulas, utilizando la técnica de difusión por diálisis. La quercetina es un flavonoide conocido por su elevado poder antioxidante, que es susceptible a las condiciones climáticas como la luz y la temperatura, además de degradarse en pH ácido, lo ideal es que se proteja y su sitio óptimo de liberación sea el intestino humano ya que su pH es alcalino lo que no afectara su función. Se encontró que existe diferencia en el porcentaje de liberación de quercetina si el valor del pH del medio de disolución aumenta, siendo el valor de pH de 8 el óptimo para la liberación máxima de quercetina siendo este de 92,59%, el modelo cinético de mejor ajuste al cual las microcápsulas se acoplan fue el Modelo de Hixon-Crowell, explicando que la liberación de quercetina esta mediada por erosión de la matriz conocido como proceso anómalo de liberación. Se recomienda el seguimiento de los estudios morfológicos de las microcápsulas y de formulaciones modificando el polímero a utilizar.

Palabras clave: <BIOQUÍMICA>, <FARMACIA>, <QUERCETINA>, <MICROENCAPSULACIÓN>, <QUITOSANO>, <CINÉTICA DE LIBERACIÓN>, <POLÍMEROS>, <LIBERACIÓN MODIFICADA>.

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the kinetic model which the quercetin microcapsules obtained in ionic gelation are adapted, to quantify this drugs dissolution using spectrophotometry and to check if there is a difference when releasing the drug modifying pH of the microcapsule solvent using dialysis. Quercetin is a flavonoid that is known due to its high antioxidant capacity. Besides, it is susceptible to weather conditions, such as light and temperature and is degradable under acid pH conditions. The most important thing is that it protects itself and is well absorbed by intestines due to its alkaline pH which wont affects its function. It was possible to determine that there is difference in the percentage of quercetin release if the pH value of the microcapsule solvent increase. The pH value is 8. The Ideal percentage for the maximun quercetin reléase is 92.59%. Hixson-Crowell was the best kinetic model in which microcapsule are adapted, that is why the quercetin is release by matrix erosion known as abnormal release process. It is recommended to follow up the morphology studies of microcapsules and their formulations modifying the polymer when used

Palabras clave: <BIOCHEMISTRY>, <PHARMACY>, <QUERCETIN>, <MICROENCAPSULING>, <CHITOSAN>, <RELEASE KINETICS>, <POLYMERS>, <MODIFIED RELEASE>.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad muchos compuestos durante su uso actúan de forma beneficiosa en el organismo, mediante acciones que favorecen el desempeño correcto del mismo. Muchas de estas sustancias tienen características físicas y químicas que limitan la llegada al organismo y por tanto su función, la mayoría de estas se ven afectadas por el ambiente. La mayoría por factores como la humedad, temperatura, presión etc., o por su inestabilidad química al momento de ingresar a las barreras naturales del organismo.

Los problemas de salud en la actualidad se presentan en su mayoría por hábitos como el fumar o consumir bebidas alcohólicas, esto conlleva en su mayoría al desarrollo de enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardíacas, y diabetes, lo que provoca en las células estrés oxidativo, aumento la concentración de radicales libres o especies reactivas de oxígeno (Delgado Olivares Luis, Betanzos Cabrera Gabriel y Sumaya Martínez Teresa 2010).

El propio organismo producto de sus procesos metabólicos produce radicales libres, fisiológicamente estos son degradados por enzimas que tienen actividad antioxidante como son la peroxidasa, superóxido desmutasa, o el glutatión. Cuando hay un desbalance de estas enzimas el exceso de estos radicales libres provoca daños irreversibles en las células o biomoléculas (Maldonado Saavedra et al. 2010).

El principal grupo químico que tiene mayor eficiencia en el control del estrés oxidativo son los flavonoides, los mismos que están ampliamente distribuidos en las plantas y tienen una capacidad muy alta de secuestrar a los radicales libres, por la formación de enlaces con estas sustancias oxidantes e incluso con metales pesado (Cartaya y Reynaldo 2001).

Su gran acción antioxidante ha sido utilizada para combatir enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer y evitar el proceso de formación y proliferación de tumores (Cartaya y Reynaldo 2001).

Por su estructura química la quercetina posee potentes propiedades antioxidantes, su acción es directa frente a las especies reactivas de oxígeno, neutralizando los radicales libres. También este efecto puede deberse a la inhibición de enzimas (xantina oxidasa, lipooxigenasa la NADPH oxidasa), de esta manera la muerte celular se ve disminuida. La quercetina promueve la síntesis de antioxidantes endógenos(Vicente-Vicente, Prieto y Martín 2014).

La quercetina por sus propiedades químicas no tiene una buena biodisponibilidad a partir de su ingesta en la alimentación, por encontrarse en forma de aglicona en los alimentos absorbiéndose alrededor del 52%, ya que el azúcar unido a la quercetina hace que sea más hidrofílico, debido a que presenta menor capacidad para ser absorbida, por lo que necesita de mecanismos de transporte activo mediante el transportador de glucosa sodio dependiente por su siglas SGLT-1 localizado en la pared celular del intestino delgado(Vicente-Vicente, Prieto y Martín 2014).

Por lo anterior la quercetina debe ser protegida para conservar sus propiedades y llegue a cumplir sus efectos antioxidantes, como una opción la microencapsulación por gelificación iónica permitirá conservar las propiedades antes mencionadas(Orlando et al. 2011).

En el presente estudio el principal objetivo es proporcionar una herramienta para aumentar los conocimientos en el campo de la tecnología farmacéutica, en cuanto la liberación de compuestos con actividad biológica, ya que este principio cinético es de suma importancia para que los compuestos o fármacos alcancen las concentraciones plasmáticas adecuadas para cumplir sus efectos benéficos o terapéuticos de manera eficiente y segura.

La liberación es el primer paso incluso podría decirse el más importante, ya que para que se pueda absorber, distribuir, ejercer su acción, biotransformarse y salir del organismo, primero tiene que separarse de la forma farmacéutica que lo contiene previamente a su administración.

Este proceso implica las características fisicoquímicas del principio activo, de los excipientes utilizados y la tecnología empleada en la obtención de la forma farmacéutica. Todo esto puede ser modificable ya que los farmacéuticos son los responsables de la formulación de las formas farmacéuticas, con el fin de obtener las condiciones requeridas de liberación en un sitio

determinado del organismo, para que su absorción sea la más óptima y entre a la circulación sanguínea(Doménech, Martínez y Peraire 2013).

Para una acción adecuada de la quercetina en el organismo, esta debe ser liberada en el duodeno (pH 7,4 - 8), ya que en esta porción del intestino delgado se absorbe bien la mayoría de los nutrientes de bajo peso molecular como es la quercetina(Cascales y Doadrio 2014).

Estudios publicados demuestran que consumir alimentos ricos en polifenoles que se encuentren en frutas o vegetales, reducen al 50% el riesgo de producir cáncer a nivel digestivo o en las vías respiratorias.

En la actualidad se recomienda la ingesta de quercetina por los altos índices de enfermedades cardiovasculares, ya que este polifenol ha demostrado tener una acción preventiva de arterioesclerosis, por la inhibición de la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL), además en ratas de experimentación se a podido comprobar que la quercetina mejora las contracciones del ventrículo izquierdo logrando mejorar la circulación de la sangre evitando la formación de coágulos sanguíneos(Varas 2004).

El estudiar la liberación de principios activos en formas farmacéuticas que se utilicen polímeros como excipiente es un campo que en nuestra época se está abriendo paso. La velocidad en la que el principio activo u otra sustancia contenida en la forma farmacéutica, va a estar condicionada por las propiedades fisicoquímicas del polímero, aunque existen otros factores que condicionan la liberación de la sustancia deseada como es el pH del medio en donde se va a dar la liberación.

Gracias a esto se puede formular formas farmacéuticas que permitan la liberación de las sustancias en condiciones que se requiera para que el principio activo pueda tener una buena farmacocinética.

Este estudio tiene una gran importancia ya que permitirá entender en donde se libera mejor el principio activo lo que conllevara a una correcta absorción sin que sus propiedades sean afectadas.

Por esta razón avanzar en estos estudios de liberación de sustancias aporta conocimientos para facilitar futuras formulaciones con polímeros, por la razón de que la tarea más laboriosa en los estudios de formulación de medicamentos, es que sean capaces de liberar la sustancia de una manera adecuada y que la mayoría de sustancia pase a la sangre sin mayor complicación(Sáez, Hern y Angulo 2004).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Flavonoides.

Los flavonoides son compuestos orgánicos, pertenecientes al grupo de compuestos polifenólicos que tienen la característica estructural benzo- γ -pirano (Figura 1), encontrándose ampliamente en el reino vegetal, en las plantas los flavonoides generalmente se encuentran en forma de glicósidos, es decir unidos a un carbohidrato. (Cartaya & Reynaldo, 2001, pp.5-14).

Dentro del grupo de los compuestos fenólicos, los flavonoides son los más abundantes, ya que se ha identificado 6500 compuestos diferentes (Hendrich, 2006). Su ruta de síntesis es a partir de la vía fenilpropanoide. Muchos estudios acerca de estos compuestos han descrito muchas actividades farmacológicas. (Kumar & Pandey, 2013, pp.1-11)

En año de 1930, fue aislado un compuesto de la naranja, que se creía era una vitamina la cual la bautizaron como vitamina P, más adelante se dio a conocer que esta sustancia era un flavonoide (rutina), desde ese día se han aislado más de 4000 compuestos diferentes. (Kumar & Pandey, 2013, pp.1-11)

Estructuralmente los flavonoides están formados por una estructura de 15 carbonos, formando anillos de tipo bencénico(A y B), unidos a través de un anillo heterocíclico de pirano (C) (Figura 1-1) (Kumar & Pandey, 2013, pp.1-11).

Dependiendo de su conformación los flavonoides pueden dividirse en Flavonas, flavanoles (como por ejemplo Quercetina), flavanonas, entre otros. (Kumar & Pandey, 2013, pp.1-11).

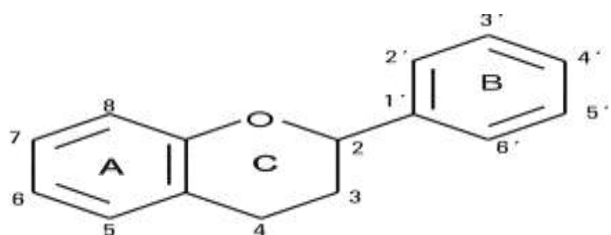
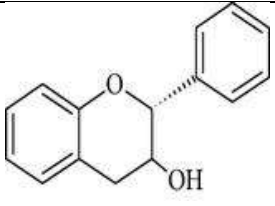
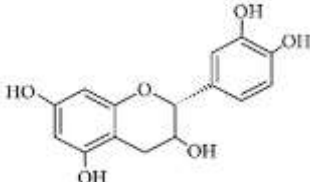


Figura 1-1. Estructura básica de un flavonoide
Fuente:(Biesaga, 2011)

Tabla 1-1: Grupos de flavonoides

GRUPO	ESTRUCTURA BÁSICA	EJEMPLOS
Flavonas		 Luteolina Apigenina Crisina
Flavonol		 Quercetina Kaempferol
Flavanonas		 Hesperidina Naringenina
Flavanonol		 Taxifolin
Isoflavonas		 Genisteína

Flavan-3-ol		
		Catequina

Fuente: (Kumar & Shashank, 2013)

Realizado por: (Pazmiño, 2017)

1.1.1.1 Farmacológica de los Flavonoides.

Farmacológicamente, los flavonoides destacan por su baja toxicidad, presentando en general, actividad sobre el sistema vascular con efecto protector de la pared vascular, (debido a la disminución de la permeabilidad y al aumento de la resistencia de los capilares). Asimismo, tienen efecto antioxidante, pueden inhibir la peroxidación lipídica, poseen efectos antimutagénicos y tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas. La acción antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres. También actúan inhibiendo sistemas enzimáticos relacionados con la funcionalidad vascular como: la catecol O-metil transferasa (COMT), con lo que aumentan la duración de la acción de las catecolaminas, incidiendo por tanto en la resistencia vascular; la histidina descarboxilasa, afectando por tanto a la acción de la histamina; las fosfodiesterasas, por lo que inhiben la agregación y adhesividad plaquetaria, etc. Por otro lado, los flavonoides ejercen otras acciones: diurética, antiespasmódica, anti ulcerosa gástrica y antiinflamatoria. En fitoterapia los flavonoides se emplean principalmente en casos de fragilidad capilar como venotónicos. (López, 2002, pp.108-14)

Además, se ha demostrado la actividad de ciertos flavonoides sobre el sistema nervioso central. Tanto las agliconas y sus conjugados pueden pasar la barrera hematoencefálica. En el SNC varias flavonas, entre ellas la apigenina, se unen al sitio de las benzodiazepinas en el receptor GABA_A lo que resulta en la sedación, efectos ansiolíticos o anticonvulsivos. (Jäger & Saaby, 2011, pp.1471-85)

1.1.1.2 Aplicación a nivel Clínico de los Flavonoides.

Clínicamente los flavonoides pueden ser aplicados de varias formas, ya que poseen actividad antiespasmódica, antiinflamatoria, antiviral, antialérgica, anti plaquetaria y son diuréticos, pero la más relevante de todas es su alto poder antioxidante, esto es debido a que tienen la capacidad de inhibir las reacciones de peroxidación lipídica, además de poseer efectos antimutagénicos puede ser una barrera contra el cáncer, también poseen la capacidad de inhibición enzimática (López, 2002, pp.108-14).

La capacidad de ser un agente quelante para el hierro, y secuestrador de radicales libres, además de la inhibición de enzimas oxidasas (lipooxigenasa, ciclooxigenasa entre otras), hace que los flavonoides sean potentes antioxidantes, permitiendo un bloqueo de la formación de radicales libres. (Escamilla et al., 2009, pp.73-75).

La capacidad de un flavonoide de ser antioxidante depende de los cambios en la estructura base de su composición.

Tabla 2-1. Criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de un flavonoide.

Criterio	Resultado
Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B.	Le confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
Doble ligadura, en conjunción con la función 4-oxo del anillo C.	Necesarios para ejercer el máximo potencial oxidante
Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C.	

Fuente: (Martinez et al, 2002)

Basándose en la tabla anterior, el flavonoide quercetina tiene la capacidad antioxidante más alta, comparando con otros como vitamina C o vitamina E (Escamilla et al., 2009, pp.73-75).

1.1.2 Quercetina.

La quercetina (3,3',4', 5,7-pentahidroxiflavona) cuya estructura se muestra en la Figura 2-1, es el compuesto que se encuentra en mayor cantidad, aproximadamente entre un 60 y 75 por ciento del total de los flavonoles consumidos (Hertog & Hollman, 1996, pp.63-71).

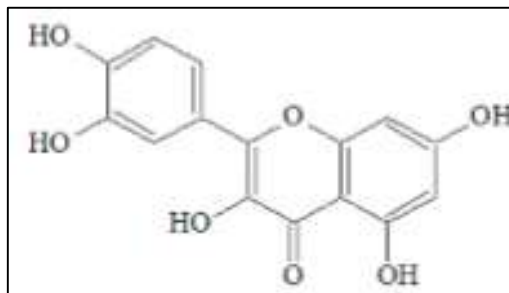


Figura 2-1. Estructura química de la quercetina

Fuente: (Hertog & Hollman, 1996)

Quercetina es un bioflavonoide, que se consume con mucha frecuencia en la dieta diaria, que tiene muchos efectos positivos en la salud de las personas, ya que evita el estrés oxidativo celular y mantiene normales los rangos de la presión sanguínea en las personas. Por los diversos estudios realizados sobre quercetina, se considera a este flavonoide como un agente farmacológico para contrarrestar diversas enfermedades degenerativas e incluso crónicas, gracias a su alta actividad antioxidante, como se puede mencionar enfermedades cardiovasculares y cáncer (Moretti et al., 2016, pp.140-47).

1.1.2.1 Quercetina en alimentos.

La quercetina está ampliamente distribuida en la vegetación comestible, se la puede encontrar en alimentos como: vegetales y frutas, te negro, cebolla, vino tinto, en este último está en forma de glicosidos. Dependiendo de la dieta se puede alcanzar hasta una ingesta de 500 mg de quercetina al día (Merck 2012).

1.1.2.2 Actividad Farmacológica de la Quercetina.

La quercetina ha presentado varios beneficios farmacológicos destacando su alto poder antioxidante, el cual representa 5 veces más potente que la vitamina C o Vitamina E, pero la similitud en la solubilidad la tiene con la última mencionada (Merck 2012).

Muchos estudios han demostrado diversas actividades farmacológicas de quercetina, entre los cuales han sido beneficiosas para el sistema cardiovascular, también es un buen antiinflamatorio, además de ser un buen gastroprotector y hepatoprotector por lesiones ocasionadas por la ingesta en abuso de alcohol (Merck 2012).

1.1.2.3 Farmacocinética de la Quercetina.

La biodisponibilidad de la quercetina es realmente baja, gracias a que su estructura molecular esta en forma de glucósido, por tal razón, de la totalidad de la ingesta de quercetina solo un 52% se absorbe, fenómeno asociado a que la quercetina presenta un azúcar en su estructura atribuyéndole características hidrofílicas elevadas, además de aumentar su masa atómica evitando que en la célula se absorba por transporte pasivo, requiriendo de transporte activo para su absorción. Algunos investigadores sugieren que se transportan directamente hacia el interior de los enterocitos por el transportador I de glucosa dependiente de Na (Hollman et al., 1995, pp.1276-82) que se encuentra localizado en la pared del intestino delgado -. Por otro lado la absorción de quercetina en forma de aglicona representa el 20 por ciento y puede transportarse a través de las membranas por difusión pasiva en el intestino grueso (Vicente-Vicente et al., 2013, pp.171-81).

En el proceso de distribución la quercetina se une a la albumina, así llega a los diferentes órganos del cuerpo siendo los principales el colon, intestino delgado, riñones e hígado, en este último la quercetina sufrirá reacciones de fase II (Day et al., 2000, pp.166-70), un estudio indica que tras la ingesta de alimentos que contiene abundante quercetina la concentración plasmática del flavonoide ha llegado a tener una concentración entre 0,7 y 7,6 μM (Van der Woude et al., 2006, pp.193-203).

Se ha estimado que la vida media de quercetina en humanos está en el rango de 31-50 horas, con un pico máximo de concentración a los 30 min y otro a las 8 horas después de ingerir 100 mg. (Van der Woude et al., 2006, pp.193-203).

1.1.3 Formas farmacéuticas de liberación modificada para uso oral.

Las formas farmacéuticas de liberación modificada, se obtienen o hacen referencia a la manipulación de una sustancia o principio activo, con el objetivo de modificar su interacción con el medio en el cual será utilizada, por lo cual se va a modificar el lugar, el momento la duración y la magnitud de la acción de dicho activo (Suñe, 2003, pp.31-35).

1.1.3.1 Clasificación.

Una clasificación bastante aceptada es la que Ballard y Nelson en 1970 propusieron, la cual se detalla a continuación:

- **Formas farmacéuticas de liberación sostenida**

Son aquellas formas farmacéuticas e donde el principio activo es liberado en tal cantidad que sea necesaria para obtener una respuesta farmacológica deseada en un corto lapso de tiempo, y en lo posterior liberar de forma continua para que tanto las velocidades de absorción y eliminación del activo sean iguales en un periodo de tiempo. Este tiempo está comprendido entre los 10 y 24 horas, de forma que estas formas farmacéuticas presentan una cinética de liberación de orden 0, y gracias a esto mantienen el nivel de principio activo constante en el plasma sanguíneo (Suñe, 2003, pp.31-35).

- **Formas farmacéuticas de liberación prolongada**

A diferencia de la forma farmacéutica descrita anteriormente se puede decir que las formas de liberación prolongada, al inicio, liberan una cantidad suficiente del fármaco e incluso un ligero exceso para conseguir la acción terapéutica sin causar repercusiones tóxicas para el organismo. Posteriormente la liberación del principio activo se da de manera lenta y a una velocidad que no es igual a la velocidad de eliminación obteniéndose así una liberación lenta pero no constante, observándose niveles plasmáticos que varían dentro de la zona terapéutica (Suñe, 2003, pp.31-35).

- **Formas farmacéuticas de liberación repetida**

Se refieren a las formas farmacéuticas que en un inicio liberan una cantidad simple de principio activo para en un tiempo posterior liberar otra dosis igual. Durante el intervalo de tiempo entre la liberación de las dosis no se da liberación del fármaco (Suñe, 2003, pp.31-35).

- **Formas farmacéuticas de liberación retardada o diferida**

Este tipo de formas farmacéuticas de liberación modificada permiten la liberación del principio activo en el sistema digestivo intestinal, dependiendo del pH del medio en el cual se encuentre, como ejemplo de este grupo se formulan comprimidos gastroresistentes, para que el principio activo se libere y absorba en el intestino delgado (Suñe, 2003, pp.31-35).

1.1.4 Microencapsulación

La microencapsulación es un proceso por el cual una o varias sustancias se encapsulan con una capa de polímero microscópica con el objetivo de protegerla y liberarla en lo posterior. Para ello se puede encapsular partículas sólidas, líquidas o en forma de gas, dentro de un recubrimiento conocido como matriz (Gaonkar et al., 2014, pp.557-69).

Dentro de la metodología de la microencapsulación hay que hacer una acotación, ya que las sustancias con tamaño entre 100 nm y 1000 nm se encuentran dentro del rango de microcápsulas, en cambio, las partículas que estén en el rango de 1 nm y 100 nm se consideran nano capsulas. (Gaonkar et al., 2014, pp.557-69).

Mediante la microencapsulación se puede dar protección a varios activos los cuales pueden verse modificados de forma negativa por las condiciones desfavorables en las cuales van a estar sometidos como condiciones climáticas o propiedades del organismo en el que se encuentren (Kwak, 2014, pp.57-63).

1.1.4.1 Categorización de las microcápsulas.

Las micro encapsulaciones pueden ser categorizadas de acuerdo a la morfología que estas poseen. (Figura 3)

- **Microcápsulas**

Son llamadas así ya que tienen una morfología núcleo–cubierta muy bien definida, pudiendo llevar en su interior una sustancia activa ya sea esta sólida o líquida obteniéndose así un sistema heterogéneo (Gaonkar et al., 2014, pp.557-69).

- **Microesferas**

Este tipo de macropartículas están constituidas por una red continua de material soporte o polimérico en donde la sustancia o componente a ser encapsulado esta dispersado en forma molecular constituyendo un sistema homogéneo (Murillo et al., 2001, pp.19-34)

- **Microcápsulas homogéneas o microesferas heterogéneas**

Sistemas intermedios entre los dos estados, homogéneos en formas multinucleares y heterogéneas de dispersiones particulares. Se caracterizan porque presentan en algunas zonas mayor cantidad de principio activo (zonas ricas) con respecto a otras (zonas pobres) (Murillo et al., 2001, pp.19-34)

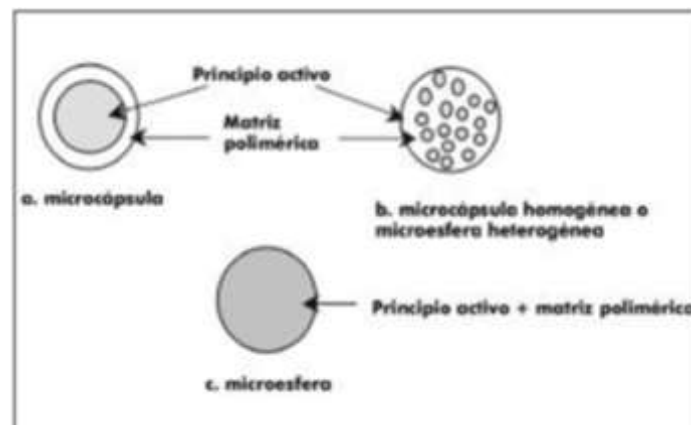


Figura 3-1. Tipos de microcápsulas
Fuente: (Murillo et al., 2001)

1.1.4.2 Utilidades de las Micro encapsulaciones.

Hay muchos usos de las microcápsulas tanto en las ramas de alimentos como en las farmacéuticas. En el ámbito farmacéutico las microcápsulas han ayudado al cumplimiento de tratamientos (Murillo et al., 2001, pp.19-34).

Los beneficios de la microencapsulación están descritos por varios autores, pero de forma más concisa José Luis Vila Jato los propone de la siguiente manera(Vila Jato, 2008, pp.571-82).

- Estabilización de moléculas activas inestables: La protección a los principios activos de varios factores que pueden afectar dentro y fuera del organismo de la persona.
- Permite que la solubilidad y la permeabilidad del principio activo sean modificables de acuerdo a los requerimientos de la forma farmacéutica.
- Facilita el cambio de principios activos líquidos en formas sólidas que permiten un mejor manejo y mayor tiempo de almacenamiento.
- Dentro de la misma forma farmacéutica se puede formular varios principios activos incompatibles entre sí.

En el campo de la biofarmacia, la terapéutica y formulación de nuevos medicamentos las microcápsulas aportan sus beneficios mediante:

- Reducción de irritación estomacal causada por varios principios activos.
- Permite enmascarar olor y sabor mejorando indudablemente la aceptación por parte del paciente.
- Permite un control de la liberación del principio activo de manera local dependiendo del pH del medio.
- Permite una distribución más homogénea del principio activo en el tracto gastrointestinal, siendo, además, su tiempo de transición intestinal mucho menos influenciado por la alimentación.
- Minimiza la pérdida del principio activo en todo su trayecto hasta que sea absorbido en sitio de elección, logrando así, aumentar su biodisponibilidad.

1.1.4.3 Metodología para el micro encapsulaciones.

Para llevar a cabo una microencapsulación se puede llevar a cabo mediante la utilización de tres métodos en general. Como se describe en el cuadro 1.

MÉTODOS		
Físicos	Fisicoquímicos	Químicos
Secado por atomización.	Coacervación simple o compleja.	Inclusión molecular.
Extrusión.	Liposomas.	Polimerización interfacial.
Recubrimiento por lecho fluidizado.	Gelación Iónica.	
Separación por suspensión rotacional.		

Figura 4-1: Métodos de obtención de microcápsulas

Fuente: (Gharsallaoui et al., 2007)

Para elegir el método adecuado para la microencapsulación, el tamaño de partícula es imprescindible, de las características físicas y químicas de los agentes encapsulantes, de igual forma del principio activo, y otros como la inversión del proceso y la aplicación de las macropartículas (Gharsallaoui et al., 2007, pp.1107-21).

En lo que se refiere al tamaño de partícula, esta está en relación al método por el cual fue obtenida la microcápsula, como se presenta en el cuadro 2, diferentes métodos permiten diferentes tamaños de partículas.

MÉTODO	TAMAÑO DE LA PARTÍCULA
Coacervación	1-1000 μm
Polimerización interfacial	1-1000 μm
Extracción / evaporación del solvente	0,1-1000 μm
Atomización y atomización - congelación	1-1000 μm
Suspensión en aire	50-5000 μm
Gelación iónica	>1000 μm

Figura 5-1: Tipos de microcápsulas según el tamaño de partícula.

1.1.5 Gelificación Iónica.

La gelificación iónica consisten en una técnica que permite formar la cubierta de la microcápsula, mediante la reacción de gelificación con dos sustancias de carga opuesta, generalmente se utiliza un polisacárido (poli anión) y un ion (catión), el resultado es una cubierta insoluble pero permite la premiación suficiente para una correcta liberación del principio activo (Helgerud et al., 2010, pp.48-67).

1.1.5.1 Polímeros utilizados en gelificación iónica.

Gracias a su fácil manejo esta familia química es la de elección para la formación de microcápsulas, dentro de los cuales se pueden encontrar los sintéticos y semisintéticos. Los polímeros de origen natural pueden ser de origen animal o vegetal, siendo estos polisacáridos, como por ejemplo tenemos al alginato, dextrano la goma arábica y el quitosano (Vila Jato, 2008, pp.577-82).

Dentro de los polímeros semisintéticos se puede mencionar al acetobutirato, etilcelulosa, acetoftalato, los cuales son derivados de la celulosa, estos varían su solubilidad siendo el último dependiente del pH del medio, en cuanto a los dos primeros son insolubles (Vila Jato, 2008, pp.577-82).

En cuanto a los polímeros sintéticos se refiere, los derivados acrílicos y los poliésteres son los principales de este grupo. Dentro del grupo de los derivados acrílicos existen polímeros que se distinguen por su permeabilidad y solubilidad en dependencia del pH del medio en el que se encuentren, gracias a esto se puede controlar la liberación del principio activo. En cuanto al grupo de los poliésteres tienen la característica de ser biodegradables por lo que se facilita su administración por vía parenteral (Vila Jato, 2008, pp.577-82).

1.1.5.1.1 Quitosano.

Este polímero resulta de N- desacetilación a partir de la quinina, gracias a esto le confiere mejores propiedades de reactividad y solubilidad. Su estructura se puede apreciar en la figura 5-1, por su estructura química se considera un polímero de naturaleza catiónica lineal, con un gran peso molecular, pero tiene la característica de ser biodegradable, por lo tanto es amigable con el medio ambiente (Marmol et al., 2011, pp.53-58).

Estructuralmente el quitosano tiene una similitud con la celulosa, los dos están formados por enlaces de monosacáridos lineales de tipo β -(1-4). Gracias a sus grupos aminos primarios el quitosano es muy utilizado en la industria farmacéutica, ya que estos grupos le atribuyen características al quitosano de ser un mucoadesivo y poseer una gran carga positiva (Mohammadpourdounighi et al., 2010, pp.137-43).

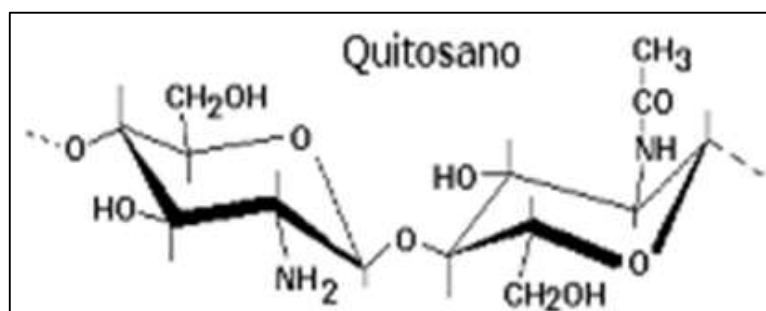


Figura 6-1. Estructura del quitosano

Fuente: (Marmol et al., 2011)

Gracias a su baja toxicidad, una fácil biodisponibilidad y excelente biocompatibilidad los polímeros biodegradables son muy utilizados en sistemas controlados de liberación de principios activos. Dentro de este grupo el quitosano es un excelente agente para la formulación de este tipo de microcápsulas (Mohammadpourdounighi et al., 2010, pp.137-43).

Aparentemente la solubilidad en agua de quitosano depende de los grupos amino libres de igual forma de los grupos N-acetil.

Muchas características hacen del quitosano un excelente agente gelificante para la formulación de micro y nano capsulas, tales como: el control de la liberación de principios activos, evita la necesidad de agentes orgánicos tóxicos para la preparación de la microcápsula, posee muchos grupos aminos libres esenciales para el entrecruzamiento con aniones multivalentes y gracias a sus carácter mucoadhesivo permite incrementar el tiempo residual en el sitio donde se absorberá el principio activo (Mohammadpourdounighi et al., 2010, pp.137-43).

Mediante lo antes mencionado, el quitosano se puede utilizar con seguridad para la formación de microcápsulas mediante gelificación iónica, ya que aporta mayor estabilidad, una forma más definida y tamaño homogéneo de partícula (Flores - Belmont & Jiménez - Munguia, 2013, pp.48-56).

1.1.6 Liberación de principios activos.

La liberación es el proceso por el cual el principio activo se desacopla de sus excipientes para ser absorbido con facilidad en el organismo (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

1.1.6.1 Velocidad de liberación en sistemas de liberación modificada.

Los estudios de liberación a partir de formas farmacéuticas de liberación modificada permiten seguir el desarrollo de la producción de nuevos lotes de medicamentos. El principio de estos estudios es tabular la concentración o porcentaje de un principio activo en función de un tiempo conocido. A partir de los datos obtenidos en el tabulado se realiza un ajuste mediante funciones matemáticas a un modelo predictivo que explique el mecanismo de liberación del principio activo de la matriz en la cual ha sido formulado (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

1.1.6.2 Metodología para el estudio de la velocidad de liberación.

Para los estudios de liberación la USP estipula que no se necesita la técnica de paletas, ni canastilla, por lo cual sugiere un método descrito a continuación en la figura 6-1.

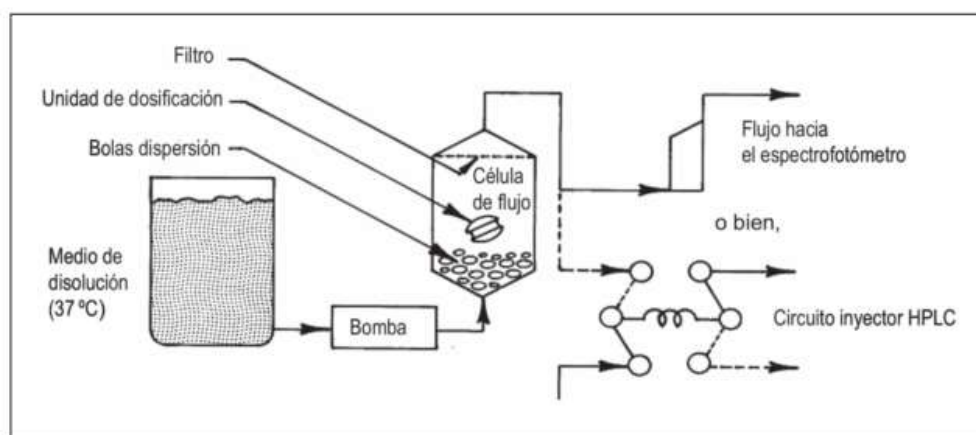


Figura 7-1: Mecanismo para estudio de liberación.

Fuente: (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011)

En este mecanismo el flujo me medio de disolución tiene que mantenerse constante, y de pH progresivo en una escala en general entre 1,5 – 12. Como se ve en la tabla 5-1.

Horas	1,5	3	6	9	12
pH	1,2	2,5	4,5	7,0	7,5
% Disuelto	5-15	20-50	45-70	65-75	75-100

Figura 8-1: Parámetros para el ensayo de disolución de FFLM.

Fuente: (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011)

1.1.6.3 Mecanismos de liberación.

Las formas farmacéuticas sufren en general tres procesos de liberación:

- Difusión, descrita a partir de la segunda ley de Fick.
- Hinchamiento o relajación, debido a la incorporación de agua en la matriz.
- Erosión, por disolución o hidrólisis del polímero.

El mecanismo de liberación que sufra un principio activo depende de la formulación de la matriz, es decir el tipo y la cantidad de polímero utilizado y la característica hidrofílica del principio activo (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

1.1.6.3.1 Difusión de Fick.

El proceso de difusión está influido por la capacidad de hinchamiento del polímero y por la hidrosolubilidad del principio activo incluido en la matriz. Para polímeros de bajo poder de hinchamiento, como en el caso de las etilcelulosa, el coeficiente de difusión del principio activo permanece constante durante el proceso de liberación; para el caso de polímeros altamente hinchables (hidroxipropilmetilcelulosas), el coeficiente de difusión es altamente dependiente del contenido del agua que penetra en el sistema, de manera que a medida que va entrando agua se produce un aumento del coeficiente de difusión del principio activo. Considerando la solubilidad del principio activo, cuando ésta es elevada (>5 mg/ml), la liberación se produce mayoritariamente por disolución del principio activo en el agua que se infiltra a través de la matriz. Por otra parte, la incorporación en la matriz de principios activos poco hidrosolubles ($<0,5$ mg/mL) dará lugar, durante el proceso de liberación, a la coexistencia de fármaco disuelto y fármaco en estado sólido (sin disolver) dado que el agua que penetra en la matriz no alcanzará a solubilizar la totalidad del fármaco. En estos casos, la liberación se produce parcialmente por disolución del principio activo en el agua infiltrante y, por otra, por erosión de la matriz (el fármaco se irá disolviendo en el medio tras la ruptura del núcleo o matriz), dado que la presencia de partículas sólidas de principio activo produce una disminución de la capacidad de hinchamiento de la misma, mientras que la erosión se ve incrementada (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

1.1.6.3.2 Hinchamiento o relajación de la matriz.

A este proceso se lo conoce como transporte caso II, el polímero se hidrata provocando que aumente el tamaño del mismo, al hincharse se limita la liberación del principio activo y depende de la capacidad de hinchamiento del polímero (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

1.1.6.3.3 Erosión por disolución o hidrolisis del polímero.

Este proceso se da por hidrolisis o disolución del polímero, esto dependerá de las características fisicoquímicas del polímero. En el caso de fármacos con una solubilidad intermedio ($0,5$ - 5 mg/ml) la velocidad de liberación presenta un comportamiento intermedio entre los anteriores. La velocidad de liberación dependerá de la velocidad de ingreso del solvente al polímero y de la velocidad de erosión del núcleo en la matriz (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

1.1.6.4 Modelos de ajustado.

Mediante estos ajustes matemáticos se puede describir si la liberación del principio activo está regido por difusión pasiva o por otros métodos, como los descritos anteriormente, todo dependerá de la formulación de la forma farmacéutica, es decir de las características del polímero y la solubilidad del principio activo (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

1.1.6.4.1 Ecuaciones deducidas con fundamentos teóricos.

En este grupo constan las ecuaciones más representativas descritas a continuación (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

- Cinética de orden Cero.

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = Kd * t$$

- Cinética de primer orden.

$$\ln Mt = -Kd * t + \ln M_{\infty}$$

Donde:

M_{∞} = cantidad máxima de fármaco disuelto.

Mt = cantidad de fármaco disuelto a un tiempo t .

kd = constante de velocidad que rige el proceso.

1.1.6.4.2 Ecuaciones empíricas o semiempíricas.

- Ecuación de Higuchi (ecuación de la raíz cuadrada)

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = Kd * \sqrt{t}$$

- Ley de la potencia o ecuación de Korsmeyer-Peppas.

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = Kd * t^n$$

Donde:

M_t = cantidad de fármaco disuelto a un tiempo t .

M_∞ = cantidad máxima de fármaco disuelto.

M_t / M_∞ = fracción de la cantidad de fármaco disuelto a un tiempo t .

k = constante de velocidad que rige el proceso que incorpora características estructurales y geométricas del sistema.

n = exponente de liberación difusional.

De acuerdo con el cuadro 3, los valores extremos de $n = 1$ y $n = 0,5$ sólo se obtendrían con geometrías planas. Asimismo, las funciones de Higuchi y orden cero serían casos particulares de aplicación de la ley de la potencia cuando $n = 0,5$ o $n = 1$, respectivamente.

Valores de $0,43 < n < 0,5$ son indicativos de que el proceso de liberación está gobernado mayoritariamente por difusión pasiva; valores de $0,85 < n < 1$ son indicativos de que el proceso de liberación está gobernado mayoritariamente por hinchamiento/erosión de la matriz (transporte Caso II), y para valores intermedios se superpondrían los dos fenómenos (es el llamado transporte anómalo).

Si el valor de n es menor de 0,5, puede interpretarse que la liberación del fármaco se realiza por difusión pasiva, mayoritariamente a través de los poros de la matriz (Ford, J., 1987).

En algunos casos, puede obtenerse un valor de $n > 1$. En estos casos se habla de liberación por transporte Súper Caso II, y se atribuye el proceso por hinchamiento/relajación cuando se produce un incremento en la plasticidad y movilidad de las macromoléculas de la capa del gel formado, facilitando así la liberación del principio activo (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

<i>Valor de n</i>	<i>Mecanismo de liberación/disolución</i>	<i>Unidades velocidad</i>
0,5 ^a	Difusión fickiana	$t^{-0.5}$
$0,5^a < n < 1^b$	Transporte anómalo	t^{n-1}
1 ^b	Transporte Caso II	Orden cero (independiente del t)
$n > 1^b$	Transporte Super Caso II	t^{n-1}

Figura 9-1: Interpretación de valores de la constante “n” en el modelo de Korsmeyer-Peppas.
Fuente: (Berrozpe, Lanao y Guitart 2011).

- Ecuación (modelo) de Hopfenberg.

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = 1 - \left[1 - \frac{K_0 * t}{C_0 * a_0} \right]^n$$

Donde:

Mt = cantidad de fármaco liberado a un tiempo t.

M_∞= cantidad total de fármaco liberado.

Mt /M_∞= fracción de fármaco liberado a un tiempo t.

k₀ = constante de velocidad de erosión.

C₀ = concentración inicial de fármaco en la matriz.

a₀ = para una matriz esférica o cilíndrica es el radio inicial de la matriz. Para una matriz plana es la mitad del grosor de la matriz.

n = el valor de este parámetro es igual a 1, 2 o 3, según se trate de una matriz plana, cilíndrica o esférica, respectivamente.

- Ecuación de la raíz cúbica (Modelo de Hixon-Crowell).

Esta ecuación puede ajustar procesos de liberación de principios activos que son poco hidrosolubles, el cual es proceso esta mediado en su mayoría por erosión de la matriz de la microcápsula.

$$W_o^{1/3} - W_t^{\frac{1}{3}} = k * t$$

Donde:

W0 = cantidad inicial de fármaco en la forma farmacéutica (matriz).

Wt =cantidad de fármaco remanente en la forma farmacéutica (matriz) a un tiempo t.

k = constante de velocidad que incorpora la relación superficie/volumen de la forma farmacéutica (matriz).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.

2.1 Lugar de la Investigación.

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de productos naturales, de la Facultad de Ciencias, de la ESPOCH.

2.2 Equipos y Reactivos.

2.2.1 Equipos.

- Estufa Memmert SNB400
- Vortex
- Centrífuga
- Balanza analítica Radwag
- Espectrofotómetro Cole Parmer S-2150
- Agitador magnético DragonLab MS-S
- Sonificador branson modelo B220

2.2.2 Materiales.

- Vasos de precipitación de 150 mL
- Vasos de precipitación de 600 mL
- Espátula
- Balones aforados de 100 mL
- Balones aforados de 150 mL
- Probeta de 100 mL
- Tubos para centrifuga
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Varilla de agitación

- Micro pipeta 100 – 1000 μL
- Pipeta volumétrica de 5 mL y 10 mL
- Guantes de manejo
- Mascarilla
- Membrana de Diálisis marca Carolina Biological Supply Company
- Pinzas para membrana de diálisis.
- Palillos de plástico.

2.2.3 *Reactivos.*

- Ácido acético
- Ácido clorhídrico 1%
- Etanol anhidrido
- Etanol al 30 porciento
- Agua destilada
- Quercetina
- Quitosano
- Tripolifosfato (TPP)
- Fosfato de potasio monobásico.
- Ácido Clorhídrico 37%
- Ácido fosfórico 85%
- Ácido Clorhídrico 0,1 N
- Hidróxido de sodio 0,1 N
- Cloruro de Sodio

2.3 *Técnicas y Métodos.*

2.3.1 *Elaboración de microcápsulas.*

La metodología utilizada en la elaboración de microcápsulas fue tomada de los resultados del trabajo de titulación “**MICROENCAPSULACIÓN DE QUERCETINA MEDIANTE GELIFICACIÓN IÓNICA**” tomando los resultados de mejor formulación, y eficiencia de encapsulación (Velazco 2016).

2.3.1.1 Procedimiento.

- Se pesó 5.0 mg de quercetina y se disolvió en 99.825 mL de una mezcla etanol-agua 30/70.
- A la solución anterior se añadió 0.175 mL de ácido acético.
- Se pesó 100 mg de quitosano y se disolvió en la solución de quercetina, ácido acético y etanol-agua 30/70, obteniéndose una solución de CS al 0.1%.
- Se preparó una solución TPP a una concentración de 0.08 %, pesándose 80 mg y disolver en 100 mL de agua destilada.
- Las soluciones de TPP se ajustaron a un pH final de 5 utilizando ácido clorhídrico 1% como agente acidulante.
- Una vez formadas las soluciones, se deja caer la solución de TPP mediante goteo y agitación constante, sobre la solución de quercetina, quitosano y etanol-agua 30/70, para la formación de las microcápsulas.
- Finalizada la agitación se trasvasó el contenido del vaso a un tubo de centrifuga y se procedió a centrifugar la mezcla por 30 minutos a una velocidad aproximada de 2500 rpm.
- Se analizó el sobrenadante mediante espectrofotometría y se leyeron las absorbancias a una longitud de onda de 272 nm.
- Se calculó la eficiencia de encapsulación utilizando la fórmula $\%EE = ((A-B)/A) \times 100$ donde A representa la cantidad total de quercetina encapsulada y B representa la cantidad libre de quercetina.
- El procedimiento se llevó a cabo de la misma manera para todos los lotes de microcápsulas.
- Una vez formadas las capsulas se procedió a filtrarlas, mediante el uso de matraz quitasato y bomba de vacío.
- Las microcápsulas filtradas fueron sometidas a liofilización, hasta obtener un polvo seco.

2.3.2 Eficiencia real de encapsulación.

Para la eficiencia real de encapsulación se utilizó la metodología descrita por (Granados et al. 2016).

2.3.2.1 Procedimiento.

- Pesar 250 mg de microcápsulas y colocarlas en un tubo de ensayo.
- Colocar 10 ml de etanol absoluto y agitar en vortex por un minuto.
- Dejar reposar por 10 minutos.
- Filtrar la solución.
- Leer en espectrofotómetro a una longitud de onda de 272 nm.
- Para calcular la eficiencia real de encapsulación se procedió con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Real de encapsulación} = \frac{\% \text{ Inicial} - \% \text{ Final}}{\% \text{ Inicial}} \times 100$$

2.3.3 Liberación de Quercetina.

El procedimiento para los estudios de liberación de quercetina fue tomado de(Oviedo 2005).

2.3.3.1 Preparación de membranas de diálisis.

Las membranas de diálisis deben estar mínimo 1 hora sumergidas en agua destilada antes de su manipulación.

2.3.3.2 Llenado de las microcápsulas en las membranas de diálisis.

- Pesar 125 mg de microcápsulas.
- Medir 8 cm de membrana de diálisis y en el extremo inferior colocar la pinza especial de cierre hermético.
- Con la ayuda de palillos de plástico, abrir la membrana de diálisis y colocar las microcápsulas en su interior, evitando formar burbujas de aire en el interior de la membrana.
- Sellar con una pinza hermética en el extremo superior de la membrana ya cargada con las microcápsulas.

2.3.3.3 Preparación de las soluciones amortiguadoras a diferente pH.

En la tabla 1-2, se detalla la formulación para cada solución amortiguadora.

Tabla 1-2: Formulación para soluciones amortiguadoras a pH diferente.

Reactivo	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5	pH 7.0	pH7.5	pH 8.0
KH ₂ PO ₄ p.a.		6.8g	6.8g	6.8g	6.8g	6.8g	6.8g	6.8g
HCl 37% p.a.	7.0 ml							
H ₃ PO ₄ 85 % p.a.		0,759 g						
HCl 1.0 N			c.s.p					
NaOH 1.0 N				c.s.p	c.s.p	c.s.p	c.s.p	c.s.p
NaCl p.a.	3.8258 g	5.5995 g	5.8459 g	5.7342 g	4.8930 g	3.6184 g	1.9856 g	0.8208 g
H ₂ O DESTILAD A c.s.p	1 L	1 L	1 L	1 L	1 L	1 L	1 L	1 L

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)
Fuente: (Oviedo 2005)

2.3.3.4 Procedimiento liberación de quercetina.

- Colocar en un vaso de precipitación 100 ml de las soluciones amortiguadoras a una temperatura de 37 ± 1.0 °C.
- Colocar la membrana de diálisis cargada con las microcápsulas de quercetina, en el vaso de precipitación con la solución amortiguadora.
- Llevar el vaso de precipitación al agitador magnético, ajustándolo a 50 rpm.
- Manteniendo la temperatura de 37 ± 1.0 °C, tomar una alícuota de 5 ml de la solución a diferentes tiempos establecidos de la siguiente manera: 5, 10, 15 ,20, 25, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 y 480 minutos.
- Para evitar efectos de variación de volumen y de saturación de liberación de quercetina, cada volumen de alícuota que se tomaba se reemplazaba con el mismo volumen de la solución amortiguadora a la temperatura de 37 ± 1.0 °C.
- Se midió la concentración de quercetina mediante el uso de espectrofotómetro a una longitud de onda de 272 nm.
- Cada ensayo se llevó a cabo por triplicado.

CAPITULO III

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

3.1 Hipótesis general.

Ho: Los parámetros de obtención de las microcápsulas así como de sus componentes permitirán obtener una aproximación de un ajuste matemático para obtener el modelo cinético de liberación de su principio activo, el cual se estima será diferente de acuerdo al pH del medio de disolución.

3.2 Objetivos de la investigación.

3.2.1 Objetivo General.

- Determinar el modelo cinético de mejor ajuste en relación a la liberación de quercetina a partir de las microcápsulas.

3.2.2 Objetivos Específicos.

- Determinar si existe diferencias en el porcentaje de liberación de quercetina por efecto de los distintos niveles de pH.
- Obtener el pH óptimo de liberación de quercetina a partir de las microcápsulas.
- Cuantificar el porcentaje de quercetina en cada una de las muestras de disolución mediante espectrofotometría.

4. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

4.1 Formación de las microcápsulas

Tabla 1-4: Lotes de microcápsulas obtenidos.

Preparación de Lotes						
Lote	A	ppm(A)	B	ppm(B)	%EE	ppm(%EE)
1	2,788	38,7617	1,067	15,0119	61,27	23,7498
2	1,285	16,9923	0,435	6,2903	62,98	10,702
3	2,683	37,3127	1,069	14,4649	61,23	22,8478
4	0,349	5,1035	0,145	2,2883	55,16	2,8152
5	0,877	12,3899	0,298	4,3997	64,48	7,9902
6	0,918	12,9557	0,312	5,5929	64,54	7,3628
7	0,743	10,5407	0,38	5,5313	47,52	5,0094
8	0,775	10,3623	0,362	5,2829	49,02	5,0794
9	3,01	41,82	2,244	17,4545	58,26	24,3655
10	2,966	41,2181	0,73	10,3613	74,86	30,8568

A: absorbancia de quercetina en capsulas; B: absorbancia de quercetina sobrenadante.
Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

Como se ve en la tabla 1-4, se obtuvo un total de 10 lotes de microcápsulas de quercetina, con una media %EE de 55.03, cada lote tiene conocido la cantidad de quercetina encapsulada, lo cual es indispensable para el procedimiento de liberación. Cada uno de los porcentajes de encapsulación se obtuvo mediante el uso de la ecuación $y = 0.0387x + 0.0746$, la cual fue obtenida de (Velazco 2016).

El procedimiento descrito por (Velazco 2016), permite la obtención de microcápsulas a porcentajes de encapsulación similares, por lo tanto se puede llevar a cabo una producción a gran escala de esta forma farmacéutica.

4.2 Porcentaje de encapsulación real.

El porcentaje de encapsulación real se expresa en el gráfico.

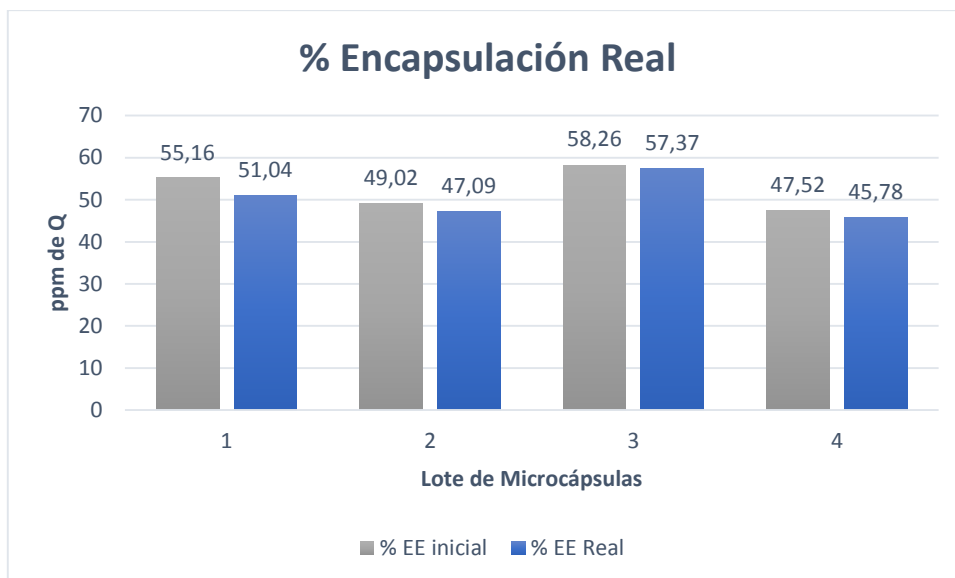


Gráfico 1-4: Porcentaje de encapsulación real
Realizado por: (Pazmiño, 2018)

Tabla 2-4: Porcentaje de encapsulación real.

% Real de encapsulación				
Muestra	% Inicial	ppm teórico	ppm Real	% Real
1	55,16	2,815	2,605	51,04
2	49,02	5,0794	4,8801	47,09
3	58,26	24,36	23,9887	57,37
4	47,52	5,094	4,8934	45,78
Media		Media		
52,49		50,32		
		Diferencia		
		2,17±1,53%		

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

El porcentaje de encapsulación real permitió verificar la concentración real de principio activo en la matriz formulada, de esta manera se puede dosificar la cantidad que se requiera para posteriores formulaciones de microcápsulas, a partir de los compuestos utilizados como agentes gelificantes. Este fenómeno puede estar justificado debido a la permeabilidad de quitosano.

En la tabla 2-4, se aprecia el porcentaje de encapsulación real el cual es menor al porcentaje de encapsulación encontrado al principio de la formulación, hallándose una disminución del $2,17 \pm 1,53\%$ de quercetina en las microcápsulas.

4.3 Liberación de Quercetina.

El proceso de liberación se llevó a cabo con 8 matrices, conociendo la cantidad de Quercetina que se encuentra encapsulada, estos valores fueron expresados en ppm de Q y en porcentaje liberado de Q, se tabulo en estas unidades ya que son indispensables para la obtención del ajuste al modelo cinético.

Luego del proceso los valores de quercetina fueron tabulados de acuerdo a cada pH de disolución y al tiempo en el cual la matriz se encontró en disolución. Las membranas de diálisis son indispensables para el estudio porque sirven como acondicionamiento para el polvo liofilizado de las microcápsulas, además que permiten la salida de Quercetina de la matriz al medio de disolución pero encierran al polímero para que no pase a la disolución.

Tabla 3-4: Cantidad en ppm de Quercetina liberada en el proceso de disolución

	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>M4</i>	<i>M5</i>	<i>M6</i>	<i>M7</i>	<i>M8</i>
<i>Tiempo/pH</i>	1,2	3	4,5	5,5	6,5	7	7,5	8
5	0,089	0,073	0,247	0,192	0,119	0,078	0,447	0,500
10	0,147	0,114	0,256	0,416	0,218	0,462	2,876	3,135
15	0,220	0,165	0,507	0,672	0,394	1,323	6,094	6,276
20	0,278	0,186	0,722	0,976	0,628	2,301	9,189	9,473
25	0,299	0,217	0,934	1,313	0,883	3,380	12,019	9,205
30	0,311	0,233	1,229	1,643	1,165	4,508	14,685	15,052
40	0,320	0,252	1,707	2,337	1,817	6,191	19,977	20,051
50	0,326	0,314	2,111	2,883	2,585	6,958	22,279	23,507
60	0,326	0,355	2,737	3,320	2,992	7,705	24,710	26,065
90	0,326	0,401	4,604	5,071	5,331	8,158	26,265	26,623
120	0,326	0,440	6,368	7,747	7,061	8,503	27,456	27,824
180	0,326	0,521	9,226	11,965	7,701	8,824	27,787	28,441
240	0,326	1,078	11,090	15,250	8,079	9,082	27,793	28,561
300	0,326	1,543	13,405	16,188	8,521	9,585	27,793	28,570
360	0,326	1,544	13,992	16,451	8,905	9,598	27,793	28,570
480	0,326	1,544	14,625	16,592	8,912	9,599	27,793	28,570

M= matriz;

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

Al final de los 480 minutos del ensayo se construyó la tabla 3-4 que explica cómo se va liberando el principio activo de las matrices en medio de disolución con pH progresivo. Dentro de este estudio se clasifica a las matrices de acuerdo al rango de pH en los cuales se ha realizado la

disolución, es así que se tiene matrices en pH ácido, pH neutro y pH alcalino, esto es indispensable para el análisis y la diferenciación del comportamiento de la microcápsula para la liberación del Q.

Se puede ver que los resultados de la liberación de Q en cada matriz es diferente, ya que mientras el pH del medio aumenta, el polímero permite una mayor liberación de quercetina, lo cual es corroborado por los estudios de (Oviedo 2005).

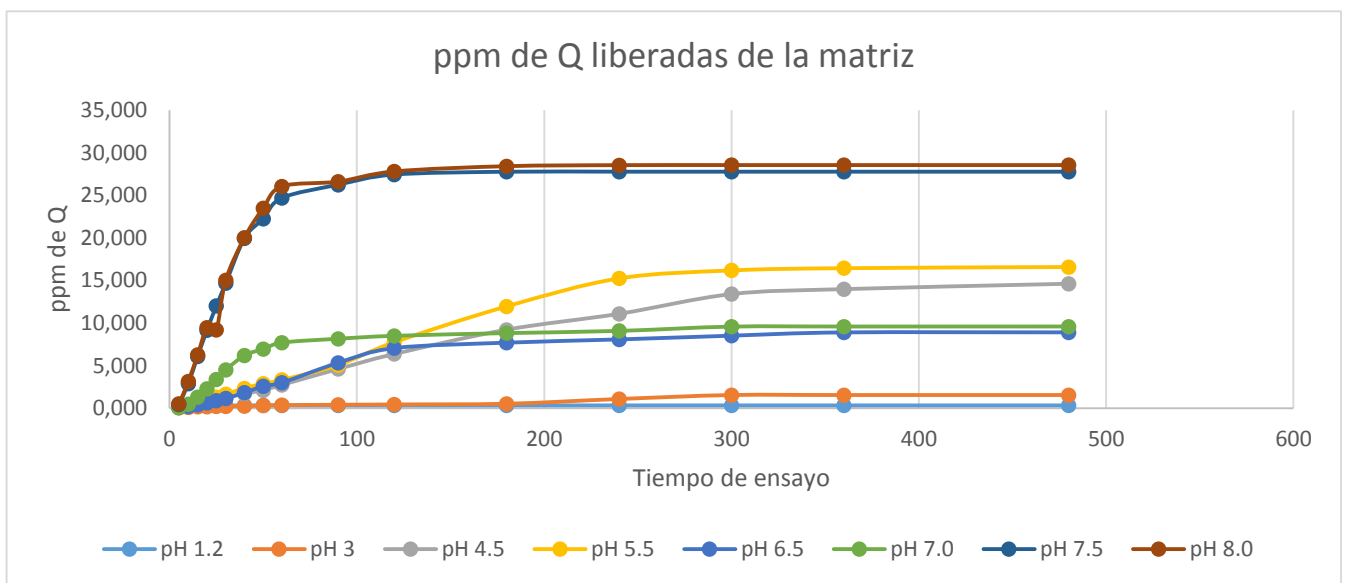


Gráfico 1-4: ppm de quercetina liberada de la matriz

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

El gráfico anterior explica que al final del ensayo, a pH alcalino se ha liberado de la matriz la mayor cantidad de Quercetina, un total de 28.570 ppm, en cambio en el pH ácido se alcanza a liberar 0,326 ppm de Q.

Al comienzo de los ensayos en cada caso la cantidad de Q liberada desde la matriz es relativamente igual en cada rango de pH, pero mientras el tiempo sigue corriendo, la matriz se comporta diferente en cada medio de disolución haciendo que más cantidad de Q sea liberada de la matriz al medio de disolución.

4.3.1 Liberación de Q en medio ácido.

En este estudio se considera a las soluciones buffer de pH 1,2; 3; 4,5; y 5,5 como medios ácidos de disolución para las diferentes matrices de esta manera se puede ver en el grafico 2-4, la cantidad de Q liberada en los medios ácidos de disolución.

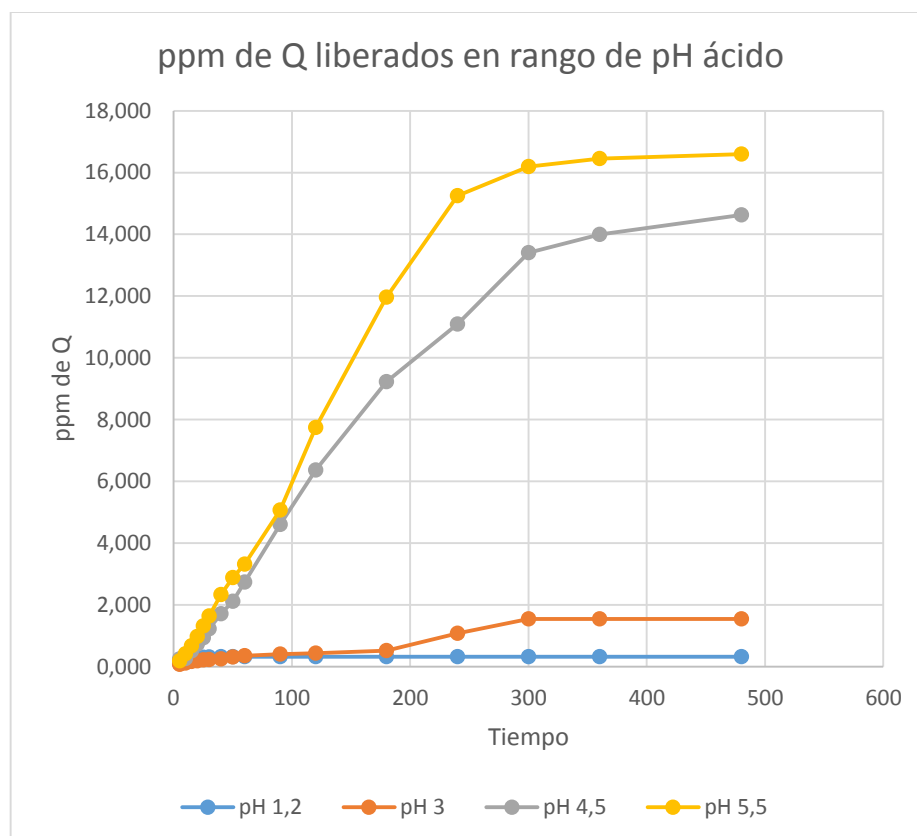


Gráfico 2-4: ppm de Q liberadas en rango de pH ácido
Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

En la solución de pH 1,2 se alcanza una cantidad máxima de Q liberada de 0,326 ppm, en el medio de disolución de pH 3 la matriz a liberado 1,544 ppm al termino del ensayo, en cuanto al medio de disolución de pH 4,5 la cantidad máxima liberada es de 14, 625 ppm, y por último a pH 5,5 se libera 16,592 ppm de Q. Todos estos valores reflejan que si se administra por vía oral las matrices van a proteger de una manera óptima a la Q, esto es favorable ya que en medio de pH alcalino este principio activo es degradado.

Para este ensayo las matrices estuvieron precargadas con: 7,9902; 8,3628; 22, 8478 y 23,7498 ppm de Q respectivamente.

4.3.2 Liberación de Q en medio neutro.

Para este estudio los medios de disolución de pH 6,5 y 7,0 fueron tomados como rango de pH neutro, por lo que en la gráfica siguiente se muestra la cantidad de Q liberadas en este medio de disolución.

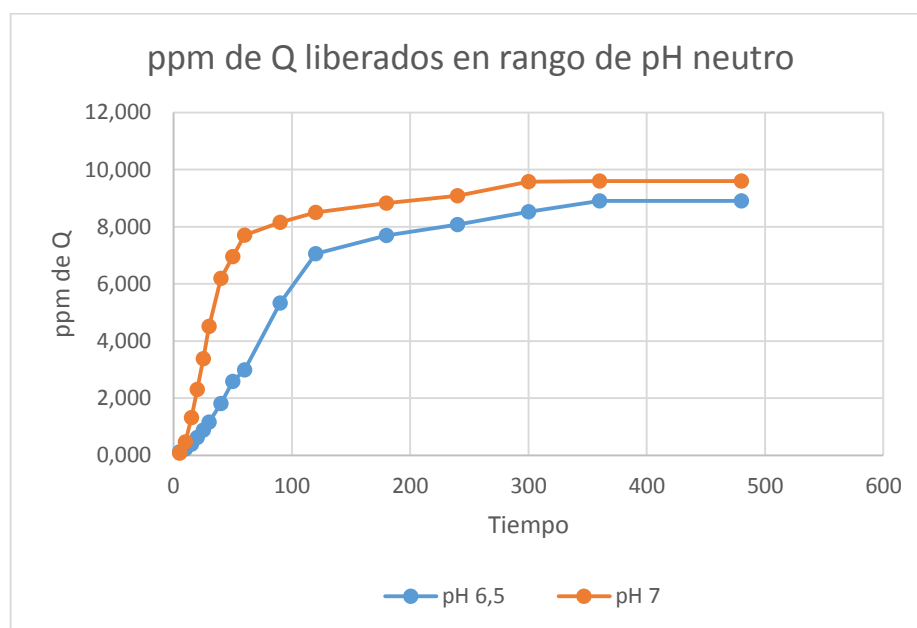


Gráfico 3-4: ppm de Q liberadas en rango de pH neutro
Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

En el caso en la que las matrices interactuaron en un medio de pH neutro, aumentaron la cantidad de liberación de Q con respecto al caso anterior (pH ácido), los valores de liberación en el rango de pH neutro son similares obteniéndose que en el rango de pH 6,5 la matriz permitió una liberación de 8,912 ppm en cuanto a pH 7 se obtuvo 9,599 ppm de Q. Para este caso las matrices utilizadas estaban precargadas con 10,702 ppm de Q, para cada ensayo.

Los valores liberados de quercetina van aumentando progresivamente al aumentar el valor de pH del medio de disolución.

4.3.3 Liberación de Q en medio alcalino.

Los valores del rango de pH considerados alcalinos para este estudio fueron los medios de disolución de pH 7,5 y 8,0. En el gráfico se muestra la relación en la liberación de quercetina en este rango de pH.

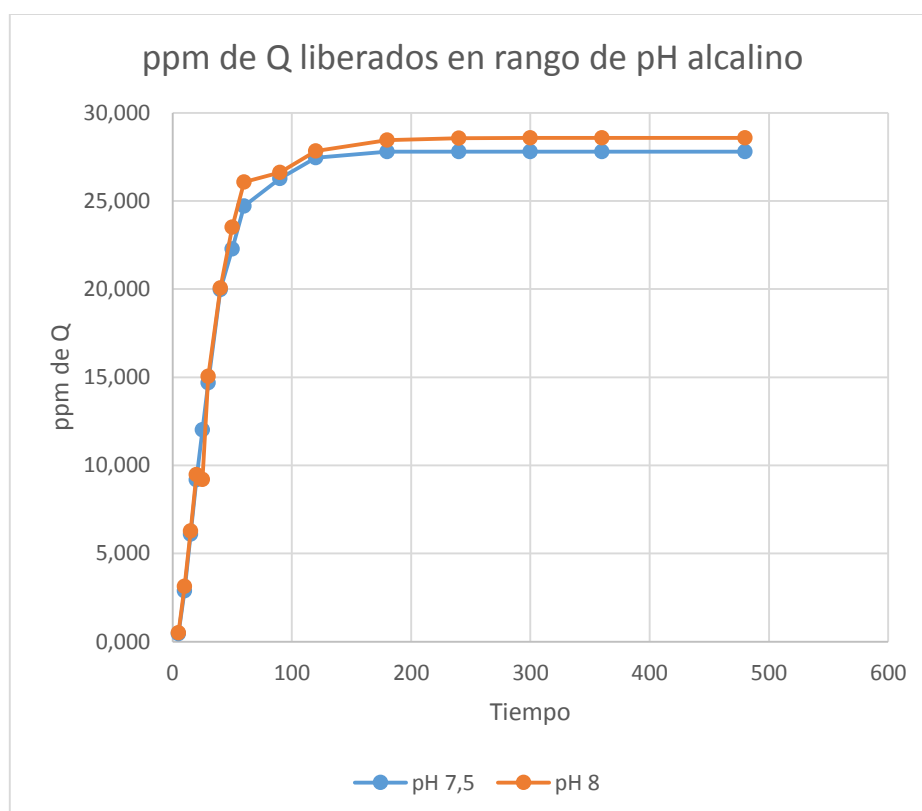


Gráfico 4-4: ppm de Q liberadas en rango de pH alcalino

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

Los valores de liberación de Q en medio alcalino van de la mano con cantidades liberadas muy similares es decir, al final del ensayo a pH 7,5 se ha liberado 27,793 ppm de Q y a pH 8 se ha liberado 28,570 ppm de Q, para este ensayo se utilizaron matrices precargadas con 30,8568 ppm de Q para cada matriz.

Estos valores fueron los esperados ya que se ha liberado la mayor cantidad de Q en un medio de disolución alcalino, lo cual indica que si al administrar por vía oral las matrices van a liberar de forma óptima en el organismo la Q en los lugares donde el pH alcalino sea el medio de disolución, como lo es el intestino delgado, y se puede asumir que la Q no va sufrir degradación alguna de esta manera va a tener una mayor biodisponibilidad, logrando un mejor efecto terapéutico.

4.3.4 Porcentaje de liberación de Quercetina.

Todos los valores que se mostraron anteriormente se tabularon en forma de porcentaje de liberación para tener una forma más clara y comprensible de como los polímeros actúan de acuerdo a los medios de disolución.

Tabla 4-4: Porcentaje de Quercetina liberada en el proceso de disolución.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
TIEMPO/PH	1,2	3	4,5	5,5	6,5	7	7,5	8
5	1,12	0,87	1,08	0,81	1,11	0,73	1,45	1,62
10	1,84	1,36	1,12	1,75	2,04	4,32	9,32	10,16
15	2,75	1,97	2,22	2,83	3,68	12,36	19,75	20,34
20	3,48	2,23	3,16	4,11	5,87	21,5	29,78	30,7
25	3,74	2,59	4,09	5,53	8,25	31,58	38,95	39,83
30	3,89	2,79	5,38	6,92	10,89	42,12	47,59	48,78
40	4,01	3,01	7,47	9,84	16,98	57,85	64,74	64,98
50	4,08	3,76	9,24	12,14	24,15	65,02	72,2	76,18
60	4,08	4,25	11,98	13,98	27,96	72	80,08	84,47
90	4,08	4,79	20,15	21,35	49,81	76,23	85,12	86,28
120	4,08	5,26	27,87	32,62	65,98	79,45	88,98	90,17
180	4,08	6,23	40,38	50,38	71,96	82,45	90,05	92,17
240	4,08	12,89	48,54	64,21	75,49	84,86	90,07	92,56
300	4,08	18,45	58,67	68,16	79,62	89,56	90,07	92,59
360	4,08	18,46	61,24	69,27	83,21	89,68	90,07	92,59
480	4,08	18,46	64,01	69,86	83,27	89,69	90,07	92,59

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

En la tabla 4-4 se muestra los diferentes porcentajes de Q que fueron acumulándose en el transcurso del ensayo, los mismos que fueron obtenidos comparando las ppm de Q precargados inicialmente en cada matriz, con las ppm de Q liberadas en cada intervalo de tiempo del ensayo, utilizando la siguiente formula:

$$\%Q \text{ liberada} = \frac{\text{ppm } Q \text{ liberado a un tiempo } T}{\text{ppm } Q \text{ matriz}} \times 100$$

La tabulación del porcentaje de liberación explica de forma general la cantidad de Q que es liberada del polímero de acuerdo a cada medio de disolución de pH progresivo.

En cuanto a la matriz en medio de disolución de pH 1,2 se alcanzó un máximo de 4,08% a los 50 minutos del ensayo, lo cual indica que el polímero protege de manera óptima a la Q y asegura su llegada al sitio de liberación requerido en el organismo.

El polímero en medio de disolución de pH 3 alcanzó un máximo de liberación de 18,46% a los 360 minutos del ensayo, en el caso de la matriz a pH 4,5 al término de los 480 minutos de ensayo alcanza un máximo de 64,01 % que dentro del rango de pH ácido es un cambio drástico en la liberación y comportamiento del polímero aumentando casi 4 veces la liberación en solo una escala de pH.

En cuanto a los pH 5,5; 6,5 y 7 se alcanzó un porcentaje máximo de liberación de 69,86; 83,27 y 89,69 respectivamente al término del tiempo máximo de ensayo que era de 480 min.

Las matrices que interactuaron con un medio de disolución alcalino tuvieron el porcentaje más alto de liberación siendo así a pH 7,5 se liberó el 90,07% a los 240 minutos y manteniéndose hasta el final del ensayo, en cuanto al polímero en medio de disolución a pH 8 se liberó el 92,59% a los 300 minutos, de la misma manera se mantuvo hasta los 480 minutos de ensayo.

Para observar si existe diferencia significativa en la liberación de quercetina se realizó la prueba de ANOVA de un factor haciendo uso de la herramienta estadística IBM SPSS Statistics 22, con un $p \geq 0,05$.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Liberación

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	124300,168 ^a	22	5650,008	24,511	,000
Interceptación	156747,504	1	156747,504	679,997	,000
Tiempo	60564,741	15	4037,649	17,516	,000
pH	63735,426	7	9105,061	39,499	,000
Error	24203,755	105	230,512		
Total	305251,428	128			
Total corregido	148503,923	127			

Figura 1-4: Análisis de ANOVA de un factor para relacionar liberación de Q con pH

Fuente: IBM SPSS Statistics

La figura 1-4 indica que sí existe diferencia significativa en cuanto a la liberación de Quercetina si variamos la escala de pH y el tiempo de exposición de la matriz al medio de disolución, ya que se obtiene un valor inferior a 0,05 de significancia en la relación.

Por lo tanto si el pH del medio de disolución aumenta progresivamente, la matriz aumentara la liberación de Q, por lo tanto el pH óptimo de liberación de las matrices es el medio alcalino, en este estudio el pH óptimo es 8.0.

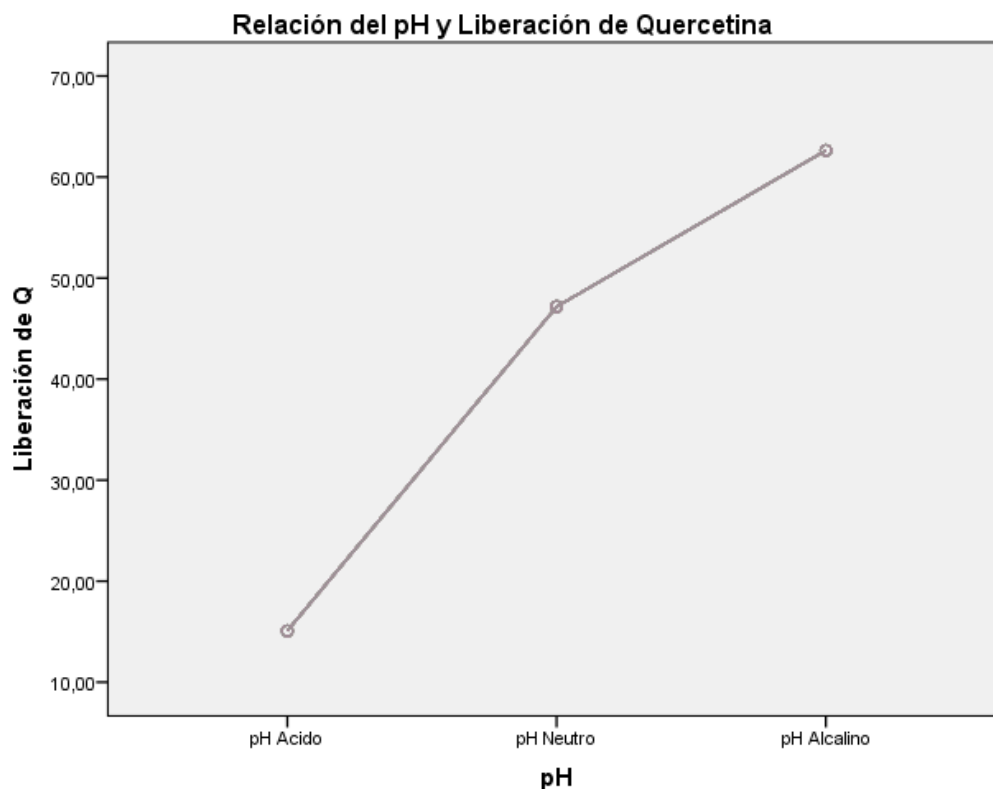


Figura 2-4: Grafico de relación de pH con liberación de Q

Fuente: IBM SPSS Statistics

4.4 Ajuste al modelo cinético de liberación.

Cada matriz de FFLM, tiene un modelo de como los polímeros se comportan en el medio de disolución al momento de liberar su principio activo, para lo cual se debe ajustar a distintos modelos o funciones matemáticas, para determinar según sus valores cual es el fenómeno por el cual la matriz libera el principio activo.

4.4.1 Ajuste de modelos y ecuaciones empíricas.

En la tabla No 5-3 se muestra los principales ajustes de modelos empíricos obtenidos a partir de los porcentajes de liberación de Q, a sus diferentes medios de disolución y en la tabla 6-3 los ajustes de acuerdo a los modelos matemáticos.

Tabla 5-3: Modelos empíricos de ajuste cinético

	HIGUCHI		KORSMEYER-PEPPAS			HOPFENBERG		HIXON-CROWELL	
PH	k	r2	k	r2	n	k	r2	k	r2
1,2	0,00485858	0,9943	0,00653349	0,9972	0,6341	-0,10151663	0,9856	0,00215983	0,995
3	0,00598273	0,9967	0,00743002	0,9926	0,6661	-0,10590225	0,9878	0,00204026	0,9937
4,5	0,01768714	0,9901	0,02312975	0,9911	0,5282	-0,09983043	0,9895	0,0078707	0,9952
5,5	0,02119696	0,9878	0,02790706	0,9958	0,5686	-0,09911523	0,9996	0,01002875	0,9834
6,5	0,03190335	0,9813	0,04469814	0,9961	0,6184	-0,09673334	0,9915	0,01241831	0,9835
7	0,05764817	0,9952	0,09034586	0,9643	0,6058	-0,08777225	0,996	0,03268529	0,9961
7,5	0,06643597	0,9937	0,09573392	0,9876	0,6378	-0,08436534	0,9959	0,05720675	0,9975
8	0,06719033	0,9948	0,08457345	0,9919	0,6409	-0,07145659	0,9952	0,05865189	0,9942

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

En la tabla 5-3 se ha plasmado los valores de las constantes propuestas de las constantes de los modelos matemáticos, acompañados de su respectivo coeficiente de determinación del ajuste, el cual es obtenido mediante la pendiente del modelo matemático ajustado a regresión lineal. Estos valores son esenciales para determinar a qué modelo de liberación se ajusta las matrices.

Tabla 6-3: Modelo de ecuaciones deducidas con fundamentos teóricos

PH	ORDEN 0	ORDEN 1
1,2	0,00022546	0,363063397
3	0,00357951	0,384094254
4,5	0,03606286	0,319882962
5,5	0,04256406	0,312460965
6,5	0,02177747	0,272037172
7	0,01779554	0,181202461
7,5	0,04700133	0,146278548
8	0,04912169	0,145219188

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

Los valores de la tabla 6-3 permiten discernir si el proceso de liberación se acopla a una difusión pasiva del principio activo a través de la matriz, todo dentro del medio de disolución.

Los datos de cada porcentaje de liberación se ajustan a los datos de cada modelo cinético mediante regresión no lineal. Para encontrar el modelo que mejor se ajusta, se utiliza los valores tratados con la ecuación matemática:

$$AIC = n \times \ln(WSSR) + 2p$$

El modelo de mejor ajuste a la liberación del principio activo es que presente menor valor de AIC, el cual estadísticamente explica el proceso por el cual el fármaco se libera de la matriz. Para este

ajuste matemático se utilizó la herramienta estadística IBM SPSS Statistics 22, obteniéndose la siguiente tabla:

Tabla 7-3: Valores de los modelos ajustados de la cinética de liberación según AIC

MODELO DE AJUSTE	VALOR
HIGUCHI	87,959
KORSMEYER-PEPPAS	89,366
HOPFENBERG	93,413
HIXON-CROWELL	85,586
ORDEN 0	97,435
ORDEN 1	99,102

Elaborado por: (Pazmiño, 2018)

En la tabla 7-3 se presentan los valores según el criterio AIC, de cada modelo matemático y empírico ajustado a los valores de los porcentajes de liberación de Q, dentro de los datos el valor menor es el que explica estadísticamente el proceso por el cual la matriz permite la liberación del principio activo. Por lo que en este estudio las microcápsulas se acoplan al modelo propuesto por Hixon-Crowell.

Este fenómeno se produce debido a la poca hidrosolubilidad de quercetina, como lo describe en su trabajo (Velazco 2016 pp 33-34), la quercetina necesita una solución hidroalcohólica para su disolución, alcanzando así un máximo de 0,59 mg/ml, además Hixon-Crowell en sus estudios demostraron que las matrices que siguen este proceso contienen principios activos de una solubilidad relativamente baja en el rango de 0,5-5 mg/ml.

Provocando así que el medio de disolución ingrese de tal forma en la matriz ocasionando un hinchamiento del polímero llevando a una erosión del núcleo de la matriz, liberando poco a poco al principio activo, a este proceso se lo conoce como transporte o liberación anómala.

Las matrices utilizadas en el estudio estuvieron formuladas con quitosano, un polímero hidrosoluble que tiene afinidad a pH alcalino, es decir en medios de disolución básicos, el quitosano permite un mayor ingreso del disolvente logrando un hinchamiento.

Mediante los datos del porcentaje de liberación de Q se puede afirmar lo antes dicho, ya que mientras el medio de disolución se aleja del campo ácido el principio activo se libera con mayor facilidad, por lo tanto se puede asumir que si esta matriz ingresa al organismo por vía de administración oral permitirá que la Q, llegue sin daño alguno al intestino delgado y se libere al máximo en organismo, conociendo que el pH del intestino es alcalino favoreciendo el proceso de liberación de Q.

CONCLUSIONES

- Se determinó el modelo cinético de mejor ajuste relacionado con la liberación de quercetina a partir de las microcápsulas. Se concluyó que las microcápsulas de quercetina obtenidas a partir de gelificación iónica con quitosano se ajustan al modelo propuesto por Hixon-Crowell, describiendo liberación del principio activo por erosión del polímero.
- Se encontró relación entre el porcentaje de liberación de quercetina y la variación de pH, comprobando que mientras mayor es el valor del pH del medio de disolución, mayor es la cantidad de liberación de quercetina.
- Se obtuvo que el pH óptimo de liberación de quercetina a partir de las microcápsulas fue el medio de disolución de pH 8 con un máximo de liberación del 92,59%.
- El método espectrofotométrico es fácilmente reproducible y no tiene variación en su metodología, gracias a esto se logró concluir que hay una variación del $2,17 \pm 1,53\%$ en el proceso de encapsulación de quercetina.

RECOMENDACIONES.

- Continuar con los estudios de tamaño real de partícula, mediante técnicas como microfotografía de barrido.
- Realizar análisis de biodisponibilidad de quercetina mediante administración oral de las microcápsulas.
- Realizar el estudio variando las concentraciones de quitosano y probando mezclar con otros polímeros.
- Adquirir materiales necesarios en los laboratorios de investigación, para facilitar a los proyectos de investigación sea más rápidos y eficaces.

BIBLIOGRAFÍA

AGOSTINI-COSTA, T., Chromatography and Its applications. *Intech*, 4, p.131, 2012.

AULTON, M., In *FARMACIA, La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. Segunda edición. pp.22-32. 2004.

BIO-INREN, *Transferencia de conocimiento Universidad empresa*. [Online] Available at: http://www.redtcue.es/TCUEPublico/queestcue/actuacionesenred/DesafioTCUE/2014/Necesidades_Tecnologicas/NT03.html [Accessed 10 Octubre 2015]. 2014.

BERROZPE, J.D., LANAO, J.M. Y GUITART, C.P., *Tratado general de Biofarmacia y Farmacocinética*. S.l.: s.n. ISBN 9788499587783. 2011.

CALVO, et al, Novel Hydrophilic Chitosan-Polyethylene Oxide Nanoparticles as Protein Carriers. pp.1-8. 1996.

CARTAYA, O. & REYNALDO, O., Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), pp.5-14. 2001

CASTELLANO, G., TENA, J. & TORRENS, F., Classification of phenolic compounds by chemical structural indicators and its relation to antioxidant properties of *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Communications in mathematical and in computer chemistry*, 67, pp.231-350. 2012

CARTAYA, O. y REYNALDO, I., 2001. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, vol. 22, no. 2, pp. 5-14. ISSN 0258-5936.

CASCALES, M. y DOADRIO, A.L., Fisiología del aparato digestivo. *Monografías de la Real*

Academia Nacional de Farmacia, pp. 12-27. 2014.

DELGADO OLIVARES LUIS, BETANZOS CABRERA GABRIEL y SUMAYA

MARTÍNEZ TERESA, Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, vol. 50, no. September, pp. 10-15. ISSN 16579267. DOI 10.5565/rev/athenea.1697. 2010.

DOMÉNECH, J., MARTÍNEZ, J. y PERAIRE, C., 2013. *Tratado general de Biofarmacia y Farmacocinética*. S.l.: s.n. ISBN 978-84-995895-4-1.

ESMAEILZADEH, F. ET AL., EFFECT OF QUERCETIN SUPPLEMENTATION ON BLOOD PRESSURE IN PATIENTS WITH A HISTORY OF ISCHEMIC STROKE.

Technical Journal of Engineering and Applied Sciences , pp.1963-66. **2013**.

FLORES - BELMONT, I. & JIMÉNEZ - MUNGUÍA, M., Microencapsulación de compuestos activos con quitosano. *Temas selectos de Ingenieria de alimentos*, 7(1), pp.48-56. 2013.

GAONKAR, A., VASISHT, N., KHARE, A. & SOBEL, R., *Microencapsulation in the food industry*. first edition ed. San diego - California: ELSEVIER. 2014.

GHARSALLAOUI, A., et al, Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients.. *Food Research International* , 10, pp.1107-21 2007.

GRANADOS, F.,et al., Evaluación de extracción, encapsulación y capacidad antioxidante de las antocianinas de la flor de Jamaica. , pp. 14-16. 2016.

FLORES - BELMONT, I. & JIMÉNEZ - MUNGUÍA, M., Microencapsulación de compuestos activos con quitosano. *Temas selectos de Ingenieria de alimentos*, 7(1), pp.48-56. 2013.

GAONKAR, A. et al., *Microencapsulation in the food industry*. first edition ed. San diego - California: ELSEVIER. 2014.

GHARSALLAOUI. et al, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients.. *Food Research International* , 10, pp.1107-21. 2007

GUIRADO, O. Expresión de las proteínas p21 Ras y e Cáncer. *Medicentro*, 11(1). 2007

HEIM, K., TAGLIAFERRO, A. & BOBILYA, D. Flavonoid, antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem*, 13, pp.572-84. 2002

HELGERUD, et al., Alginates. In A. Imeson, ed. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*. Blackwell Publishing Ltd.. pp.48-67. 2010.

HENDRICH, A.B., Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharma*, 27, pp.27-40. 2006.

HERTOG, M. & HOLLMAN, P., Potencial health effects of the dietary flavonol quercetin. *Eur J Clin Nutr*, 50, pp.63-71. 1996.

HOLLMAN, P. et al., Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *The American Journal of Clinical Nutrition* , 62, pp.1276-82. 1995.

JÄGER, A. & SAABY, L., Flavonoids and the CNS. *Molecules*, 16, pp.1471-85. 2011.

KUMAR, S. & PANDEY, A., Chemistry and biological Activities of Flavonoids: An overview. *The scientific world journal*, pp.1-11. 2013.

KWAK, H.-S., *Nano- and Microencapsulation for Foods*. First edition ed. Seoul: Jihn Wiley and sons, Ltd. 2014.

LÓPEZ, T., Flavonoides. *OFFARM*, 21(4), pp.108-14. 2002.

MALDONADO, O. et al., Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Rev Med UV*, p.32. 2010.

MARMOL, Z. et al., Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*, (1), pp.53-58. 2011.

MARTÍNEZ, S. et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), pp.271-78. 2002.

MICHALAK, A., Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish journal of environmental studies* , 15(4), pp.523-30. 2006.

MOHAMMADPOURDOUNIGHI, N. et al., Preparation of chitosan nanoparticles containing Naja naja oxiana snake venom. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6, pp.137-43. 2010.

MORETTI, E. et al., Effect of quercetin-loaded liposomes on induced oxidative stress in human spermatozoa. *Reproductive Toxicology* , 60, pp.140-47. 2016.

MURILLO, M. et al., Liberación controlada de principios activos mediante el empleo de formulaciones galénicas. *Revista Médica Universidad de Navarra*, 45(4), pp.19-34. 2001.

PARZANESE, M., N.D. MICROENCAPSULACIÓN. *Tecnologías para la Industria Alimentaria*, 20, pp.1-12. 2012

PÉREZ - DÍAZ, M. et al., Anti biofilm activity of chitosan gels formulated with silver nanoparticles and their cytotoxic effect on human fibroblasts. *Material Science & Engineering C*. 2015.

QIN, H. ET AL., Preparation and characterization of magnetic Fe₃O₄-chitosan nano- particles loaded with isoniazid.. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 381, pp.120-26. 2015

RANELLETTI, F. et al., Quercetin inhibits p21-ras expression in human colon cancer cell lines and in primary colorectal tumors. *International Union Against Cancer* , 85, pp.438-45. 2000

REYES, L., Optimización y caracterización de la microencapsulación de la proteasa hemisfericina refinada. 2010.

SARASIN, A., An overview of the mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 544(2-3), pp.99-106. 2003.

SCALIA, S. & MEZZENA, M., Incorporation of quercetin in lipid microparticles: Effect on photo - and chemical - stability. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 49, pp.90-94. 2009.

SOHRABI, M. & DARABI, G., The application of continuous wavelet transform and least squares support vector machine for the simultaneous quantitative spectrophotometric determination of Myricetin, Kaempferol and Quercetin as flavonoids in pharmaceutical plants. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 152, pp.443-52. 2016.

SUÑE, J., Nuevas Aportaciones Galénicas a las Formas de Administración. *Formación Continuada para Farmacéuticos de Hospital*, pp.31-35. 2003.

VAN DER WOUDE, H. et al., Consequences of quercetin methylation for its covalent glutathione and DNA adduct formation. *Chemico-Biological Interactions*, 160(3), pp.193-203. 2006

VICENTE-VICENTE, L., PRIETO, M. & MORALES, A., Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Revista de Toxicología*, 30(2), pp.171-81. 2013.

VILA JATO, J., *Aspectos fundamentales de los sistemas farmaceuticos y operaciones básicas.* Madrid: Síntesis, S.A. 2008.

WALKER, S. & LOCKYER, P., Visualizing Ras signalling in real time. *Journal of cell Science*, 117(14), pp.2879-86. 2004.

ZAMORA, J., Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición* , 34(1). 2007.

ORLANDO, E.et al., Formación de microcapsulas mediante gelificación ionica. pp. 56-58. 2011.

OVIEDO, L.A., Análisis del efecto del pH en la cinética de liberación de la teofilina en un medicamento de liberación programada : Parte I . Microgránulos encapsulados recubiertos con goma laca. , vol. 34, no. 2, pp. 126-139. 2005.

SÁEZ, V., HERN, E. y ANGULO, L.S., Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol. 5, no. 1, pp. 55-70. 2004.

VARAS, D., 2004. Análisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile con técnica HPLC. , pp. 49.

VICENTE-VICENTE, L.,et al., Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Revista de Toxicología* [en línea], vol. 30, no. 2, pp. 171-181. ISSN 1697-0748. Disponible en: <http://ojs.diffundit.com/index.php/revtoxicol/article/view/555>. 2014.

ANEXOS

Anexo A: Obtención de las microcápsulas.



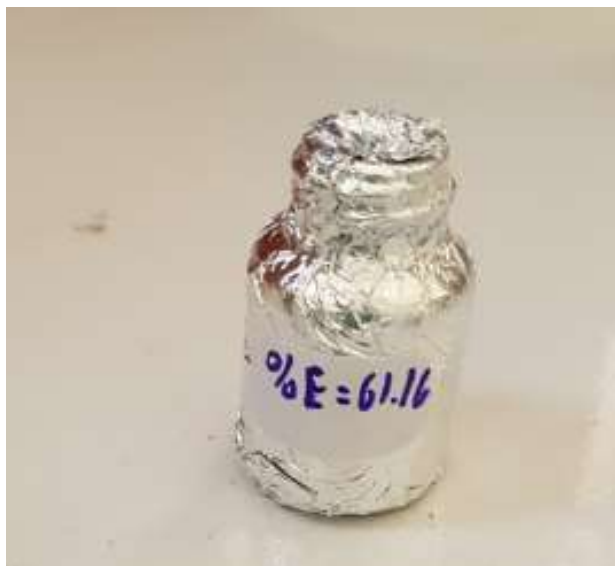
Anexo B: Filtración de las microcápsulas.



Anexo C: Filtrado de microcápsulas.



Anexo D: Acondicionamiento de las microcápsulas para liofilización.



Anexo E: Liofilización de microcápsulas.



Anexo F: Preparación de soluciones buffer (pH 1,2)



Anexo G: Preparación de soluciones buffer (pH 7,5)



Anexo H: Disolución de microcápsulas en diferentes escalas de pH



Anexo I: Modelo de la estadística utilizada para hallar el ajuste del modelo cinético (regresión no lineal)

Análisis de regresión no lineal

[Conjunto_de_datos0]

Historial de iteraciones^b

Número de iteración ^a	Suma de cuadrados residual	Parámetro
		nrl
1.0	219,290	1,000

Anexo J: Modelo de la estadística utilizada para hallar el ajuste del modelo cinético (suma de cuadrados)

Estimaciones de parámetro

Parámetro	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
nrl	1,000	,000	1,000	1,000

ANOVA^a

Origen	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadráticas
Regresión	,040	1	,040
Residuo	219,290	15	14,619
Total sin corrección	219,330	16	
Total corregido	12,330	15	

Variable dependiente: Liberación^a

a. R^2 cuadrado = $1 - (\text{Suma de cuadrados residual}) / (\text{Suma de cuadrados corregida}) = ..$

Anexo K: Modelo estadístico de regresión no lineal para coda ajuste matemático

Análisis de regresión no lineal

Historial de iteraciones^b

Número de iteración ^a	Suma de cuadrados residual	Parámetro
		nrl
1.0	1344,651	4,000

Las derivadas se han calculado numéricamente.

- Se visualiza un número de iteración principal a la izquierda del decimal y un número de iteración menor a la derecha del decimal.
- Se ha detenido la ejecución después de 1 evaluaciones de modelo y 1 evaluaciones derivadas porque la reducción relativa entre las estimaciones de parámetros sucesivas está, como máximo, en $PCON = 1,00E-008$.

Estimaciones de parámetro

Parámetro	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
nrl	4,000	,000	4,000	4,000

ANOVA^a

Origen	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadráticas
Regresión	,084	1	,084
Residuo	1344,651	15	89,643
Total sin corrección	1344,735	16	
Total corregido	624,215	15	

Variable dependiente: Liberación^a